

(19)日本国特許庁 (JP)

(12)公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2002-522751

(P2002-522751A)

(43)公表日 平成14年7月23日(2002.7.23)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト ⁷ (参考)
G 0 1 N 33/574		G 0 1 N 33/574	A 4 B 0 6 3
A 6 1 K 39/395		A 6 1 K 39/395	E 4 C 0 8 5
			T 4 H 0 4 5
49/00		49/00	C
51/00		A 6 1 P 35/00	

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 42 頁) 最終頁に統く

(21)出願番号	特願2000-563832(P2000-563832)
(86) (22)出願日	平成11年7月22日(1999.7.22)
(85)翻訳文提出日	平成13年2月5日(2001.2.5)
(86)国際出願番号	PCT/US99/16811
(87)国際公開番号	WO00/08210
(87)国際公開日	平成12年2月17日(2000.2.17)
(31)優先権主張番号	60/095, 232
(32)優先日	平成10年8月4日(1998.8.4)
(33)優先権主張国	米国(US)
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I T, LU, MC, NL, PT, SE), CA, JP, U S

(71)出願人	ダイアデクスアス・インコーポレーテッド アメリカ合衆国カリフォルニア州95054, サンタ・クララ, オクタヴィアス・ドライ ブ 3303
(72)発明者	スン, ヨンミン アメリカ合衆国カリフォルニア州95128, サン・ホセ, サウス・ワインチェスター・ ブルヴァード 869, アパートメント 260
(74)代理人	弁理士 社本 一夫 (外5名)

最終頁に統く

(54)【発明の名称】 乳癌を診断、監視、病期決定、造影及び治療する新規な方法

(57)【要約】

本発明は、乳癌を検出、診断、監視、病期決定、予知、
造影及び治療する新規な方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 患者において乳癌の存在を診断する方法であって、

(a) 前記患者の細胞、組織又は体液におけるB S Gのレベルを測定すること；及び

(b) 測定されたB S Gのレベルを正常なヒト対照由来の細胞、組織又は体液のB S Gのレベルと比較することを含んでなり、正常なヒト対照に対する患者の測定されたB S Gレベルの変化が乳癌の存在に関連づけられる、前記方法。

【請求項2】 乳癌を有する患者の転移乳癌を診断する方法であって、

(a) 転移したことが知られていない乳癌を有する患者を同定すること；

(b) 前記患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルにおけるB S Gのレベルを測定すること；及び

(c) 測定されたB S Gレベルを正常なヒト対照の細胞、組織又は体液型のB S Gレベルと比較することを含んでなり、正常なヒト対照に対する患者の測定B S Gレベルの変化が転移した乳癌に関連づけられる、前記方法。

【請求項3】 患者の乳癌を病期決定する方法であって、

(a) 乳癌を有する患者を同定すること；

(b) 前記患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルにおけるB S Gのレベルを測定すること；及び

(c) 測定されたB S Gレベルを正常なヒト対照サンプルの細胞、組織又は体液型のB S Gレベルと比較することを含んでなり、正常なヒト対照に対する前記患者の測定されたB S Gレベルの変化が、進行しているか又は退縮している、又は寛解状態にある癌に関連づけられる、前記方法。

【請求項4】 乳癌を有する患者の乳癌を転移の発症について監視する方法であって、

(a) 転移したことが知られていない乳癌を有する患者を同定すること；

(b) 前記患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルにおけるB S Gレベルを定期的に測定すること；及び

(c) 測定されたB S Gレベルを正常なヒト対照の細胞、組織又は体液型のB S Gレベルと比較することを含んでなり、正常なヒト対照に対する患者のB S G

レベルの変化が転移した癌に関連づけられる、前記方法。

【請求項5】 乳癌を有する患者の乳癌の段階変化を監視する方法であって

(a) 乳癌を有する患者を同定すること；

(b) 前記患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルにおけるB S G レベルを定期的に測定すること；及び

(c) 測定されたB S G レベルを正常なヒト対照の細胞、組織又は体液型のB S G レベルと比較することを含んでなり、正常なヒト対照に対する患者の測定されたB S G レベルの変化が、段階において進行している、段階において退行している、又は寛解状態にある癌に関連づけられる、前記方法。

【請求項6】 前記患者における乳癌の存在、転移又は進行に関連づけられる変化が、患者の測定されたB S G レベルの増加であって、B S G がM a m 0 0 1 (SEQ ID NO: 2)、M a m 0 0 4 (SEQ ID NO: 4) 又はM a m 0 0 5 (SEQ ID NO: 3) を含む、請求項1、2、3、4 又は5に記載の方法。

【請求項7】 前記患者における乳癌の存在、転移又は進行に関連づけられる変化が、患者の測定されたB S G レベルの減少であって、B S G がM a m 0 0 2 (SEQ ID NO: 1) を含む、請求項1、2、3、4 又は5に記載の方法。

【請求項8】 前記患者における乳癌の退縮又は寛解に関連づけられる変化が、患者の測定されたB S G レベルの減少であって、B S G がM a m 0 0 1 (SEQ ID NO: 2)、M a m 0 0 4 (SEQ ID NO: 4) 又はM a m 0 0 5 (SEQ ID NO: 3) を含む、請求項3 又は5に記載の方法。

【請求項9】 前記患者における乳癌の退縮又は寛解に関連づけられる変化が、患者の測定されたB S G レベルの増加であって、B S G がM a m 0 0 2 (SEQ ID NO: 1) を含む、請求項3 又は5に記載の方法。

【請求項10】 B S G がM a m 0 0 1 (SEQ ID NO: 2)、M a m 0 0 4 (SEQ ID NO: 4) 又はM a m 0 0 5 (SEQ ID NO: 3) を含む、前記B S G に対する抗体。

【請求項11】 請求項10に記載の抗体を患者へ投与することを含んでなる、患者の乳癌を造影する方法。

【請求項12】 前記抗体が常磁性イオン又は放射性同位体で標識されている、請求項11に記載の方法。

【請求項13】 請求項10に記載の抗体を患者へ投与することを含んでなる、患者の乳癌を治療する方法。

【請求項14】 抗体が細胞毒性薬に結合している、請求項13に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は、癌、特に乳癌を検出、診断、監視、病期決定、予知、造影及び治療するために新規に開発されたアッセイに一部関する。

背景技術

アメリカ人女性では、平均寿命を85歳として、その9人に1人が人生のある時期に乳癌を発症する。年間、18万人以上の米国女性が乳癌と診断され、約46,000人がこの疾患で死亡する。

【0002】

どんな女性も乳癌に罹る危険がある。乳癌を発症する可能性は加齢とともに増加する；癌が発見される女性の80%は50歳以上である。女性の発癌可能性を高め得るいくつかの危険因子も存在する。この疾患の家族歴を有する女性、30歳以後に最初の子供を産んだか、又は子供を産んだことのない女性、月経が早い時期に始まった女性は、そのリスクが高い可能性がある。

【0003】

しかしながら、乳癌を発症する女性の70%以上で既知の危険因子がない。1994年に発見されたB R C A 1 遺伝子との関連が考えられる乳癌の症例は10%に満たない。研究者たちは、栄養、アルコール、運動、喫煙、及び経口避妊薬のような他の因子が癌の予防に果たし得る役割について研究している。

【0004】

他の癌と同じように、乳癌が成功裡に治療される可能性が最も高いのは早期に発見されるときである。乳房の特殊なX線写真であるマンモグラムは、全乳癌の90%以上を検出し得る。乳癌は、早期に発見されれば、治癒の可能性は90%以上である。治療オプションには、癌の病期（ステージ）により、外科手術、化学療法、及び放射線療法がある。

【0005】

乳癌の検出、診断、監視、病期決定、予知及び造影するために使用される方法は、患者のアウトカムにとってきわめて重要である。早期乳癌と診断された患者

の5年生存率は、遠隔転移乳癌と診断された患者の5年生存率に比較してずっと高い。早期乳癌を検出するためのより高感度で特異的な新しい診断法が必要とされているのは明らかである。

【0006】

乳癌患者は、初回治療後、及びアジュvant治療の間に綿密に監視され、治療に対する応答性が判定され、持続性又は再発性の転移疾患が検出される。乳癌、及びその再発及び進行を検出する、より高感度で特異的な乳癌マーカーに対するニーズがあるのも明らかである。

【0007】

乳癌を管理するもう1つの重要な工程は、患者の疾患の病期を決定することである。病期決定には潜在的な予後価値があり、最適治療法を設計するための判断基準を提供する。一般に、乳癌の病理学的な病期決定が臨床的な病期決定より好みいのは、前者がより正確な予後をもたらすからである。しかしながら、臨床的病期決定も、病理学的病期決定と少なくとも同じくらい正確であったならば、好みいことであろう。なぜなら、病理学的評価のために組織を採取する侵襲的な方法に依存しないからである。乳癌の病期決定は、様々な浸潤段階を差別化し得る、細胞、組織又は体液内の新しいマーカーを検出することができれば、改善されることだろう。

【0008】

本発明では、9種の乳癌特異遺伝子 (Breast Specific Genes; BSG) を介して乳癌を検出、診断、監視、病期決定、予知、造影及び治療する方法が提供される。9種のBSGは、SEQ ID NO: 1~9のいずれかのポリヌクレオチド配列を含んでなる遺伝子により発現されるネーティブタンパク質を特に意味する。他のやり方では、本明細書で使用されるように、9種のBSGにより意味されるものは、SEQ ID NO: 1~9のポリヌクレオチド配列のいずれかを含んでなる遺伝子によりコードされるネーティブmRNAを意味するか、又はそれはSEQ ID NO: 1~9のポリヌクレオチド配列のいずれかを含んでなる遺伝子そのものを意味する。

【0009】

本発明の他の目的、特徴、効果及び側面は、以下の説明から当業者に明らかになるだろう。しかしながら、以下の説明及び特定の実施例は、本発明の好ましい態様を示すものであって、例示のためだけのものである。この開示される発明の精神及び範囲のなかで様々な変更及び改良をすることは、以下の説明を読むこと、及び本開示の他の部分を読むことから、当業者にはすぐに明らかであろう。

発明の要約

上記及び他の目的のために、細胞、組織又は体液のB S Gのレベルを、正常なヒト対照の好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S Gレベルと比較したときの変化について分析することによって乳癌の存在を診断する方法を提供することが本発明の目的であり、ここでは正常なヒト対照に対する患者のB S Gレベルの変化が乳癌に関連づけられる。

【0010】

さらに提供されるのは、転移した乳癌を有する疑いのあるヒト患者を同定すること；そのような患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルをB S Gについて分析すること；そのような細胞、組織又は体液のB S Gレベルを、正常なヒト対照の好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S Gレベルと比較することによって、転移したことが知られていないような癌を有する患者において転移乳癌を診断する方法であり、ここでは正常なヒト対照に対する患者のB S Gレベルの変化が転移した癌に関連づけられる。

【0011】

本発明によりまた提供されるのは、乳癌を有するヒト患者を同定すること；そのような患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルをB S Gについて分析すること；そのような細胞、組織又は体液のB S Gレベルを正常なヒト対照サンプルの好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S Gレベルと比較することによって、そのような癌を有するヒトの乳癌を病期決定する方法であり、ここでは正常なヒト対照に対する前記患者のB S Gレベルの変化が進行しているか又は退縮している、又は寛解状態にある癌に関連づけられる。

【0012】

さらに提供されるのは、乳癌を有するヒトの乳癌を転移の発症について監視す

る方法である。この方法は、転移したことが知られていない乳癌を有するヒト患者を同定すること；そのような患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルをB S Gについて定期的に分析すること；そのような細胞、組織又は体液のB S G レベルを正常なヒト対照サンプルの好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S G レベルと比較することを含み、ここでは正常なヒト対照に対する患者のB S G レベルの変化が転移した癌に関連づけられる。

【0013】

さらに提供されるのは、乳癌を有する患者のB S Gのレベルを注視することによって、そのような癌を有するヒトの乳癌の段階変化を監視する方法である。この方法は、そのような癌を有するヒト患者を同定すること、そのような患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルをB S Gについて定期的に分析すること；そのような細胞、組織又は体液のB S G レベルを正常なヒト対照サンプルの好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S G レベルと比較することを含み、ここでは正常なヒト対照に対する患者のB S G レベルの変化が進行しているか又は退行している、又は寛解状態にある癌に関連づけられる。

【0014】

さらに提供されるのは、疾患又は病態を検出又は診断する目的で患者のB S G の局在化を検出又は造影するために使用し得る、B S Gに対する抗体、又はそのような抗体のフラグメントである。そのような抗体は、ポリクローナル又はモノクローナルであり得るか、又は分子生物学の技術によって製造し得る。本文及び本明細書を通して使用されるように、「抗体」という用語は、S E L E Xとして言及され、当業者によく知られている *in vitro* 進化のプロトコールから派生するようなアプタマー及び単鎖オリゴヌクレオチドも包含することを意味する。抗体は、多様な検出ラベルで標識され得るが、それには、限定しないが、放射性同位体及び常磁性金属が含まれる。これらの抗体又はそのフラグメントはまた、B S Gの発現により特徴づけられる疾患の処置における治療薬として使用され得る。治療応用では、抗体は、放射性同位体、酵素、毒素、薬物又はプロドラッグのような細胞毒性薬へ誘導化するか又は誘導化せずに使用し得る。

【0015】

本発明の他の目的、特徴、効果及び側面は、以下の説明から当業者に明らかになるだろう。しかしながら、以下の説明及び特定の実施例は、本発明の好ましい態様を示すものであって、例示のためだけのものである。この開示される発明の精神及び範囲のなかで様々な変更及び改良をすることは、以下の説明を読むこと、及び本開示の他の部分を読むことから、当業者にはすぐに明らかであろう。

発明の詳細な説明

本発明は、B S Gのレベルを正常なヒト対照のB S Gレベルと比較することによって、癌を検出、診断、監視、病期決定、予知及び造影するための、定量的かつ定性的な診断アッセイ及び方法に関する。本明細書で使用されるように、B S Gのレベルとは、SEQ ID NO: 1~9のいずれかのポリヌクレオチド配列を含んでなる遺伝子により発現されるネーティブなタンパク質のレベルを意味する。他のやり方では、本明細書で使用されるように、B S Gのレベルとは、SEQ ID NO: 1~9のポリヌクレオチド配列のいずれでも含んでなる遺伝子のいずれでもコードされるネーティブなmRNAのレベル、又はSEQ ID NO: 1~9のポリヌクレオチド配列のいずれでも含んでなる遺伝子のレベルを意味する。そのようなレベルは、好ましくは細胞、組織及び/又は体液の少なくとも1つで測定され、正常及び異常なレベルの定量も含まれる。このように、例えば、正常な対照の体液、細胞又は組織のサンプルに比較してB S Gタンパク質群の1つのレベルにおける変化を測定する、本発明による診断アッセイは、乳癌を含む、癌の存在を診断するために使用され得る。「変化」とは、B S Gレベルの増加又は減少のいずれかを意味する。例えば、Mam001 (SEQ ID NO: 2)、Mam004 (SEQ ID NO: 4) 及びMam005 (SEQ ID NO: 3) のようなB S Gでは、正常なヒト対照に比較したレベルの増加が、乳癌、その癌の転移及び進行に関連しているのに対し、レベルの減少は退縮及び/又は寛解に関連づけられる。B S G Mam002 (SEQ ID NO: 1) では、正常なヒト対照に比較したレベルの減少が、乳癌、転移及び進行に関連しているのに対し、増加は退縮及び/又は寛解に関連づけられる。9種のB S Gは、本発明の方法において、単独でか、又はその9種のすべて一緒にか又は任意の組合せで測定され得る。

【0016】

本発明のすべての方法は、B S Gだけでなく他の癌マーカーのレベルを測定することも所望により包含し得る。B S Gだけでなく、B R C A 1のような他の癌マーカーも当技術分野で知られている。

診断アッセイ

本発明は、細胞、組織又は体液のB S Gのレベルを、正常なヒト対照の好ましくは同一タイプの細胞、組織又は体液のB S Gのレベルと比較したときの変化について分析することによって乳癌の存在を診断する方法を提供する。本明細書で示されるように、正常なヒト対照に対して患者でM a m 0 0 1 (S E Q I D NO : 2)、M a m 0 0 4 (S E Q I D NO : 4) 又はM a m 0 0 5 (S E Q I D NO : 3) のようなB S Gのレベルが増加していることが乳癌の存在に関連づけられるのに対し、正常なヒト対照に対して患者でM a m 0 0 2 (S E Q I D NO : 1) のようなB S Gのレベルが減少していることが乳癌の存在に関連づけられる。

【0017】

本発明を限定しないが、一般に、定量的な診断アッセイでは、試験される患者が癌を有することを示す陽性の結果とは、B S Gのような癌マーカーの細胞、組織又は体液レベルが、正常なヒト対照の好ましくは同一の細胞、組織又は体液より少なくとも2倍高いか又は低い、最も好ましくは、少なくとも5倍高いか又は低いものである。

【0018】

本発明はまた、まだ転移していない乳癌を有する患者の転移乳癌を、転移の発症について診断する方法を提供する。本発明の方法では、転移した可能性がある（が転移したことは知られていない）乳癌を有することが疑われるヒト癌患者が同定される。このことは当業者に知られた様々な手段により達成される。例えば、乳癌の場合、一般に患者は従来的な検出法に従って乳癌と診断される。

【0019】

本発明では、細胞、組織又は体液のB S G レベルの存在を決定することは、転移していない乳癌と転移した乳癌とを区別するために特に有用である。現存の技

術では転移した乳癌と転移していない乳癌とを区別することが難しく、適切な治療の選択はそのような知識にしばしば左右される。

【0020】

本発明では、そのような細胞、組織又は体液で測定される癌マーカーはB S Gであり、そのレベルが正常なヒト対照の好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S G レベルと比較される。つまり、観察される癌マーカーが血清のB S Gであれば、このレベルが、好ましくは正常ヒト患者の血清のB S G レベルと比較される。正常なヒト対照に対して患者でM a m 0 0 1 (S E Q I D N O : 2) 、M a m 0 0 4 (S E Q I D N O : 4) 又はM a m 0 0 5 (S E Q I D N O : 3) のようなB S G のレベルが増加していることが転移した乳癌に関連づけられるのに対し、正常なヒト対照に対して患者でM a m 0 0 2 (S E Q I D N O : 1) のようなB S G が減少していることが転移した乳癌に関連づけられる。

【0021】

本発明を限定しないが、一般に、定量的な診断アッセイでは、試験されるか又は監視される患者の癌が転移したことを見示す陽性の結果とは、B S G のような癌マーカーの細胞、組織又は体液レベルが、正常患者の好ましくは同一の細胞、組織又は体液より少なくとも2倍高いか又は低い、最も好ましくは、少なくとも5倍高いか又は低いものである。

【0022】

本明細書で使用される正常なヒト対照には、癌を有さないヒト患者、及び／又はその患者由来の非癌性サンプルが含まれ；転移について診断又は監視する方法では、正常なヒト対照は、好ましくは、転移していない乳癌を有すると信頼し得る方法により判定されているヒト患者由来のサンプル、例えば同一の患者のより初期のサンプルを含む。

病期決定（ステージング）

本発明はまたヒト患者の乳癌を病期決定する方法を提供する。

【0023】

本方法は、そのような癌を有するヒト患者を同定すること；そのような患者由

来の細胞、組織又は体液のサンプルをB S Gについて分析することを含む。次いで、この方法ではそのような細胞、組織又は体液のB S Gレベルが正常なヒト対称のサンプルの好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S Gレベルと比較され、ここでは正常なヒト対照に対して患者でM a m 0 0 1 (S E Q I D N O : 2)、M a m 0 0 4 (S E Q I D N O : 4) 又はM a m 0 0 5 (S E Q I D N O : 3) のようなB S Gのレベルが増加しているか、又はM a m 0 0 2 (S E Q I D N O : 1) のようなB S Gのレベルが減少していることが進行している癌に関連づけられ、M a m 0 0 1 (S E Q I D N O : 2)、M a m 0 0 4 (S E Q I D N O : 4) 又はM a m 0 0 5 (S E Q I D N O : 3) のようなB S Gのレベルが減少しているか、又はM a m 0 0 2 (S E Q I D N O : 1) のようなB S Gのレベルが増加していることが退縮しているか又は寛解状態にある癌に関連づけられる。

監視（モニタリング）

さらに提供されるのは、乳癌を有するヒトの乳癌を転移の発症について監視する方法である。この方法は、転移したことが知られていないそのような癌を有するヒト患者を同定すること；そのような患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルをB S Gについて定期的に分析すること；そのような細胞、組織又は体液のB S Gレベルを正常なヒト対照サンプルの好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S Gレベルと比較することを含み、ここでは正常なヒト対照に対して患者でM a m 0 0 1 (S E Q I D N O : 2)、M a m 0 0 4 (S E Q I D N O : 4) 又はM a m 0 0 5 (S E Q I D N O : 3) のようなB S Gのレベルが増加しているか、又はM a m 0 0 2 (S E Q I D N O : 1) のようなB S Gのレベルが減少していることが転移した癌に関連づけられる。

【0024】

本発明によりさらに提供されるのは、乳癌を有するヒトにおいてその癌の段階変化を監視する方法である。この方法は、そのような癌を有するヒト患者を同定すること；そのような患者由来の細胞、組織又は体液のサンプルをB S Gについて定期的に分析すること；そのような細胞、組織又は体液のB S Gレベルを正常なヒト対照サンプルの好ましくは同一型の細胞、組織又は体液のB S Gレベルと

比較することを含み、ここでは正常なヒト対照に対して患者でM a m 0 0 1 (SEQ ID NO: 2)、M a m 0 0 4 (SEQ ID NO: 4) 又はM a m 0 0 5 (SEQ ID NO: 3) のようなB S Gのレベルが増加しているか、又はM a m 0 0 2 (SEQ ID NO: 1) のようなB S Gのレベルが減少していることが段階において進行している癌に関連づけられ、M a m 0 0 1 (SEQ ID NO: 2)、M a m 0 0 4 (SEQ ID NO: 4) 又はM a m 0 0 5 (SEQ ID NO: 3) のようなB S Gのレベルが減少しているか、又はM a m 0 0 2 (SEQ ID NO: 1) のようなB S Gのレベルが増加していることが段階において退行しているか又は寛解状態にある癌に関連づけられる。

【0025】

そのような患者を転移の発症について監視することは定期的であり、好ましくは四半期ベースでなされる。しかしながら、当該の癌、特定の患者、及び癌の段階によっては頻度を増減してよい。

アッセイ技術

ある宿主に由来するサンプルにおいて、本発明のB S Gのような遺伝子発現のレベルを定量するために使用し得るアッセイ技術は、当業者によく知られている。そのようなアッセイ方法には、ラジオイムノアッセイ、逆転写酵素P C R (R T - P C R) アッセイ、免疫組織化学アッセイ、in situ ハイブリダイゼーションアッセイ、競合的結合アッセイ、ウェスタンプロット分析、E L I S Aアッセイ及びプロテオミック・アプローチが含まれる。上記のなかで、生物学的流体における遺伝子の発現タンパク質を診断するためにしばしば好ましいのはE L I S Aである。

【0026】

E L I S Aアッセイは、先ず、市販品から容易に入手し得ない場合は、B S Gに対する特異抗体、好ましくはモノクローナル抗体を製造することを含む。さらに、一般に、B S Gと特異的に結合するレポーター抗体が製造される。このレポーター抗体には、放射活性、蛍光、又は酵素の試薬のような検出可能な試薬、例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ酵素又はアルカリホスファターゼが付けられる

【0027】

ELISAを実行するには、BSGに特異的な抗体を、この抗体に結合する固体支持体、例えばポリスチレンディッシュ上でインキュベートする。さらにウシ血清アルブミンのような非特異的なタンパク質とインキュベートすることによって、ディッシュ上のフリーなタンパク質結合部位がカバーされる。次に、分析すべきサンプルをこのディッシュの中でインキュベートすると、その間に、ポリスチレンディッシュに付いた特異抗体にBSGが結合する。未結合のサンプルを緩衝液で洗い落とす。BSG特異的に向けられて西洋ワサビペルオキシダーゼに結合したレポーター抗体をディッシュに入れると、BSGに結合したモノクローナル抗体にこのレポーター抗体が結合する。結合しなかったレポーター抗体を洗い流す。比色基質を含むペルオキシダーゼ活性用の試薬をディッシュに加える。BSG抗体に連結した固定化ペルオキシダーゼにより発色した反応生成物が産生される。ある一定時間において発現した色の量は、サンプルに存在するBSGタンパク質の量に比例している。一般に、標準曲線を参照にして定量的な結果を得る。

【0028】

競合アッセイを利用することも可能であり、ここでは固体支持体及び標識されたBSGに付いたBSGの特異抗体と宿主由来のサンプルを固体支持体に通過させ、固体支持体に付いた検出ラベルの量をサンプル中のBSG量に相関させる。

【0029】

核酸法は、BSGのmRNAを乳癌のマーカーとして検出するために使用し得る。ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）及び、リガーゼ連鎖反応（LCR）及び核酸配列ベースの增幅（NASABA）のような他の核酸法が、様々な悪性疾患の診断及び監視用に悪性腫瘍細胞を検出するために使用し得る。例えば、逆転写酵素PCR（RT-PCR）は、数千もの他のmRNA種の複雑な混合物において特定のmRNA集団の存在を検出するために使用し得る強力な技術である。RT-PCRでは、先ず酵素の逆転写酵素を使用してmRNA種が相補DNA（cDNA）へ逆転写される；次いでこのcDNAを標準的なPCR反応において增幅

する。このようにR T - P C Rの増幅により、ある単一のm R N A種の存在を示し得る。従って、このm R N Aがそれを産生する細胞にごく特異的であれば、R T - P C Rを使用して特定タイプの細胞の存在を同定し得る。

【0030】

固体支持体上にアレイ配列された（即ち、グリッティング）クローン又はオリゴヌクレオチドに対するハイブリダイゼーションを使用して、当該遺伝子の発現を検出すること、及びその発現レベルを定量することが可能になる。このアプローチでは、B S G遺伝子をコードするc D N Aが基質に固定されている。この基質は好適なタイプのものであり得るが、限定せずに、ガラス、ニトロセルロース、ナイロン又はプラスチックを包含する。B S G遺伝子をコードするD N Aの少なくとも一部分を基質に付け、次いで分析物とインキュベートするが、これは関心対象の組織から単離された、R N A又はそのR N Aの相補D N A（c D N A）であり得る。基質に結合したD N Aと分析物とのハイブリダイゼーションは、様々な手段により検出及び定量され得るが、それには限定せずに、分析物又はハイブリッド検出用に設計された二次分子を放射活性標識すること又は蛍光標識することが含まれる。遺伝子発現レベルの定量は、分析物由来のシグナル強度を既知の標準から決定された強度と比較してなされる。標準は、標的遺伝子の*in vitro*転写、収率の定量、及びその材料を使用して標準曲線を作成することによって得られる。

【0031】

プロテオミック・アプローチでは、二次元（2 D）電気泳動が当技術分野でよく知られた技術である。血清のようなサンプルから各タンパク質を単離することは、通常ポリアクリルアミドゲル上で、様々な特性によりタンパク質を連続的に分離することによってなされる。先ず、タンパク質は電流を使用してサイズにより分離される。電流はすべてのタンパク質に均等に作用するので、より小さいタンパク質はより大きいタンパク質よりゲル上を遠く移動する。第二の次元では最初に対して垂直な電流を適用し、サイズではなく、各タンパク質の担う特定の電荷に基づいてタンパク質が分離される。異なる配列を有する2つのタンパク質がサイズと電荷の両方で一致することはないので、2 D分離の結果は、四角いゲル

上に各タンパク質が特有のスポットを占めることになる。化学品又は抗体のプローブでスポットを分析するか、又は後続のタンパク質のミクロ配列決定により、サンプル内のある特定タンパク質の相対量やタンパク質の同一性が明らかになる。

【0032】

上記の試験は、多種多様な患者の細胞、体液及び／又は組織生検及び剖検材料に由来するような組織抽出物（ホモジエネート又は可溶化組織）から派生したサンプルに対して実施し得る。本発明に有用な体液には、血液、尿、唾液、又は他の身体分泌物又はそれらの誘導物が含まれる。血液は、白血球、血漿、血清、又は血液の誘導物を包含し得る。

In vivo の抗体使用

B S Gに対する抗体は、乳房の疾患を有する患者に *in vivo* でも使用し得る。特に、B S Gに対する抗体は、乳房の疾患を有する疑いのある患者へ、診断及び／又は治療の目的で注射され得る。例えば、インジウム-111で標識した抗体ーキレート剤は、癌胎児性抗原を発現する腫瘍の放射免疫シンチグラフィー造影での使用が記述されている (Sumerdon et al., Nucl. Med. Biol. 1990, 17: 245-254)。特にこのような抗体ーキレート剤は、再発性の結腸直腸癌を有する疑いのある患者の腫瘍を検出するのに使用されてきた (Griffin et al., J. Clin. Onc. 1991, 9: 631-640)。磁気共鳴映像 (M R I) に使用される標識として常磁性イオンの付いた抗体についても記述されてきた (Lauffer, R. B., Magnetic Resonance in Medicine, 1991, 22: 339-342)。B S Gに対して向けられた抗体も同様のやり方で使用し得る。B S Gに対する標識抗体は、患者の診断又は病態の病期決定の目的で、乳癌のような乳房の疾患を有する疑いのある患者へ注射され得る。使用される標識は、用いられる造影のモダリティに応じて選択される。例えば、インジウム-111、テクネチウム-99m又はヨウ素-131のような放射活性標識は、二次元スキャン又はシングルフォトンエミッショ nコンピュータ断層撮影法 (S P E C T) に使用し得る。フッ素-19のような陽電子放射標識は、陽電子放射断層撮影法に使用し得る。ガドリニウム (I I I) 又はマンガン (I I) のような常磁性イオンは、磁気共鳴映像に使用し得る。乳房の内

部又は乳房の外部に標識を定位することで疾患の広がりを決定することが可能になる。乳房内の標識の量により乳房内における癌の有無を判定することも可能になる。

【0033】

乳癌と診断された患者にとっては、BSGに対する抗体を注射することが治療上の利益をもたらし得る。抗体はその治療効果を単独で発揮するかもしれない。他のやり方では、抗体は、その治療効果を増強させるために薬物、毒素又は放射性核種のような細胞毒性薬に結合される。薬物—モノクローナル抗体については、例えば Garnett and Baldwin, Cancer Research 1986, 46: 2407-2412 により、当技術分野で記述されてきた。モノクローナル抗体に毒素を結合して様々な癌種の治療に使用することも Pastan et al., Cell 1986, 47: 641-648 に記述されている。イットリウム-90で標識したモノクローナル抗体については、正常組織に対する毒性を制限しながら腫瘍へ最大用量をデリバリーすることが記述されている (Goodwin and Meares, Cancer Supplement 1997, 80: 2675-2680)。限定しないが、銅-67、ヨウ素-131及びレニウム-186を含む、他の細胞毒性の放射性核種も BSGに対する抗体の標識に使用し得る。

【0034】

上記 *in vivo* の方法に使用し得る抗体には、ポリクローナル及びモノクローナル抗体と分子生物学の技術により製造される抗体がいずれも含まれる。抗体フラグメント、及び SELEX として言及され、当業者によく知られている *in vitro* 進化のプロトコールから派生するようなアプタマー及び单鎖オリゴヌクレオチドも使用し得る。

【0035】

【実施例】

本発明は以下の実施例によりよく詳しく説明される。以下の実施例は特定の態様に関連して本発明を具体的に説明するためにのみ提供される。これら典型的な実施例は、本発明の特定の側面を説明するが、限定的なことを示したり、開示された発明の範囲を制限するものではない。

実施例 1.

diaDexus LLC, サンタクララ、CAが開発したデータマイニング用のCancer Leads Automatic Search Package (CLASP) を使用して、Incyte Pharmaceuticals, パロアルト、CAより入手可能なLIFSEQデータベースのデータを体系的に分析することにより、BSGの同定を実施した。

【0036】

CLASPは以下の工程を実施する：

標的臓器における対応ESTの（他の全臓器と比較した）アバンダンスレベルに基づいて、高度に発現されている臓器特異的な遺伝子を選択すること。

【0037】

高度に発現されている臓器特異的遺伝子のそれぞれについて、正常、腫瘍組織、罹患組織及び腫瘍又は疾患に関連した組織ライブラリーにおける発現レベルを分析すること。

【0038】

成分ESTが腫瘍ライブラリーに専ら又はより頻繁に見出されたことを示す候補遺伝子を選択すること。

CLASPにより、乳癌の診断に有用な高度に発現されている臓器及び癌特異遺伝子を同定することが可能になる。

【0039】

【表1】

表1：BSG配列

SEQ	ID NO:	LS クローン ID	LSA 遺伝子 ID
1		2740238 (Mam002)	242151
2		1730886 (Mam001)	238469
3		y155b03 (Mam005)	348845
4		2613064 (Mam004)	27052
5		894184	221086
6		2299454	27681
7		2258254	248176
8		789767	156580
9		1213903	219737

【0040】

以下の実施例は、詳しく説明される場合を除くと、当業者によく知られていて常法となっている標準技術を使用して実施した。以下の実施例にある定的な分子生物学の技術は、Sambrook et al., MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd. Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) のような標準実験マニュアルに記載の通りに実施し得る。

実施例2：遺伝子発現の比較定量

蛍光Taqmanプローブを用いるリアルタイム定量PCRは、TaqDNAポリメラーゼの5' - 3' ヌクレアーゼ活性を利用する定量的な検出系である。この方法では、5' のレポーター色素と下流の3' 消光色素で標識された内部蛍光オリゴヌクレオチドプローブ (Taqman) が使用される。PCRの間に、Taq DNAポリメラーゼの5' - 3' ヌクレアーゼ活性によりレポーターが放出され、次いでModel 7700 Sequence Detection System (PE Applied Biosystems, フォスター・シティ、CA, アメリカ) のレーザー検出器によりその蛍光を検出し得る。

【0041】

内因性対照物を増幅して、反応に加えられるサンプルRNAの量を標準化し、逆転写酵素 (RT) の効率を正規化するのに使用した。この内因性対照物として使用したのは、シクロフィリン、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) 又は18SリボソームRNA (rRNA) のいずれかである。試験した全サンプル間の相対量を算出するために、1つのサンプルの標的RNAレベルを比較結果の基準値 (キャリブレータ) として使用した。「キャリブレータ」に対する相対量は、標準曲線を使用するか又は比較法 (User Bulletin #2: ABI PRISM 7700 Sequence Detection System) により得ることができる。乳房特異マーカー (BSM) である、Mam001 (SEQ ID NO: 2)、Mam002 (SEQ ID NO: 1)、Mam004 (SEQ ID NO: 4) 及びMam005 (SEQ ID NO: 3) の正常組織及び癌組織の組織分布及びレベルを評価するために、癌及び対等の (matched) 正常隣接組織 (NAT) と、対等で

ない (unmatched) 痘及び正常組織から全RNAを抽出した。次いで、逆転写酵素を用いて第一のcDNA鎖を製造し、Mam001 (SEQ ID NO: 2)、Mam002 (SEQ ID NO: 1)、Mam004 (SEQ ID NO: 4) 及びMam005 (SEQ ID NO: 3) のそれぞれに特異的なプライマー及びTaqmanプローブを使用して、ポリメラーゼ連鎖反応を実施した。この結果は、ABI PRISM 7700 Sequence Detectorを使用して得られる。以下の数字は、それぞれのキャリブレータに比較した、Mam001 (SEQ ID NO: 2)、Mam002 (SEQ ID NO: 1)、Mam004 (SEQ ID NO: 4) 及びMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現レベルである。

SEQ ID NO: 2; クローンID: 1730886; 遺伝子ID: 238469 (Mam001) の測定

表2に示す数字は、精巣 (キャリブレータ) に比較した12種の正常組織におけるMam001 (SEQ ID NO: 2) の相対発現レベルである。これらのRNAサンプルは、市販品から入手したものと様々な個人の特定組織由来のサンプルをプールして產生したものである。

【0042】

【表2】

表2: プールしたサンプルにおけるMam001 (SEQ ID NO: 2) の相対発現レベル

組織	正常
脳	0
心臓	0
腎臓	0
肝臓	0
肺	0
乳房	6
前立腺	0
筋肉	0
小腸	0
精巣	1
胸腺	0
子宮	0

【0043】

表2の相対発現レベルは、Mam001 (SEQ ID NO: 2) のmRN

A発現が正常な乳房及び精巣のプールでは検出されるものの、分析した他の10種の正常組織プールでは検出されないことを示す。上記の結果は、Mam001 (SEQ ID NO: 2) のmRNA発現が乳房組織にごく特異的であり、精巣にも見出されることを示す。男性特有の組織における発現は女性特有の組織の癌を検出することに無関係である。

【0044】

表2に示す組織は様々な個人からプールされたサンプルである。表3に示す組織は各個人から得たものであり、プールされたものではない。従って、表2に示されるmRNA発現レベルについての数値は、表3に示される数値と直接は比較し得ない。

【0045】

表3に示される数字は、24対の対等サンプルにおける、精巣（キャリブレータ）に比較したMam001 (SEQ ID NO: 2) の相対発現レベルである。各対等の対には、同一の個人に由来する、特定組織の癌サンプルとその同一組織の正常隣接組織（NAT）サンプルが含まれる。

【0046】

【表3】

表3: 個別サンプルにおけるMam001 (SEQ ID NO: 2) の相対発現レベル

サンプルID	組織	発現	対等の正常
Mam 47XP	乳房	0	0
Mam A06X	乳房	23	1
Mam B011X	乳房	0	5
Mam 603X/C034	乳房	0	2.10
Mam 162X	乳房	1.96	0.15
Mam 42DN	乳房	0.38	1.27
Mam S079	乳房	0.34	0.36
Mam S123	乳房	0.03	0.87
Mam S516	乳房	0.43	0.53
Mam S699	乳房	0.40	0.66
Mam S997	乳房	0.41	0.51
Sto AC44	胃	0	0
TST 39X	精巣	0	0
Cin SG45	結腸	0	0
Cin TX01	結腸	0	0
Cvx NK23	頸部	0	0
Cvx NK24	頸部	0	0
Endo 3AX	子宮内膜	0	0
Endo 4XA	子宮内膜	0	0
Endo 5XA	子宮内膜	0	0
Kid 11XD	腎臓	0	0
Kid 5XD	腎臓	0	0
Lng C20X	肺	0	0
Lng SQ56	肺	0	0

【0047】

8種の異なる組織を代表する表3の48サンプルのなかで、発現が見られるのは乳房組織だけである。上記の結果は、表2に示した正常サンプルについて得られた組織特異性の結果を追認する。表2及び表3は、16種のヒト組織型で合わせて全60種のサンプルを表す。乳房及び精巣を除く14種の異なる組織型を代表する36個のサンプルではMam001 (SEQ ID NO: 2) のmRNAは検出されなかった(表2及び3)。乳房組織以外でMam001 (SEQ ID NO: 2) が検出されるのは他の1つの組織型(精巣)だけであり、それもプールされた組織サンプルだけであって(表2)、対等の精巣癌サンプルでは検出されない(表3)。

【0048】

同一の個人由来の乳癌サンプルと正常隣接組織のmRNA発現レベルを比較したものを見た。11の乳癌組織サンプルのうち、Mam001 (SEQ ID NO: 2) が対応する正常隣接組織に比べてより高いレベルで発現されて

いるのは2つ(Mam A06X及びMam 162X)である。乳癌におけるMam001(SEQ ID NO:2)の発現レベルが正常隣接組織に比較して低いのは4つの対等サンプル(Mam B011X、Mam 603X/CO34、Mam 42DN及びMam S123)である。発現が検出されなかつたのは1つの対等サンプルセット(Mam 47XP)である。同等レベル又は近似レベルの発現が検出されたのは他の4つの対等サンプルである(Mam S079、Mam S516、Mam S699及びMam S997)。しかしながら、癌の重量が増加すると、上記の例では発現の総量も全体に増加する可能性がある。

【0049】

11個体の6つで見られた高レベルの組織特異性と増加又は同等の発現は、Mam001(SEQ ID NO:2)がmRNAを用いて乳癌細胞を検出するための診断マーカーになることを裏付けている。

SEQ ID NO:1; クローンID: 2740238; 遺伝子ID: 242151(Mam002)の測定

表4に示す数字は、胸腺(キャリブレータ)に比較した12種の正常組織におけるMam002(SEQ ID NO:1)の相対発現レベルである。これらのRNAサンプルは、市販品から入手したものと様々な個人の特定組織由来のサンプルをプールして產生したものである。

【0050】

【表4】

表4：プールしたサンプルにおけるMam002 (SEQ ID NO: 1) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0.03
心臓	0.01
腎臓	0
肝臓	0
肺	0.06
乳房	289.01
筋肉	0
前立腺	0.31
小腸	0
精巣	0.08
胸腺	1.00
子宮	0

【0051】

表2の相対発現レベルは、Mam002 (SEQ ID NO: 1) のmRNA発現が正常な乳房のプールでは高レベルで検出されるものの、分析した他の11種の正常組織プールではごく低いレベルで検出されることを示す。上記の結果は、Mam002 (SEQ ID NO: 2) のmRNA発現が乳房組織にごく特異的であることを示す。

【0052】

表4に示す組織は様々な個人からプールされたサンプルである。表5に示す組織は各個人から得たものであり、プールされたものではない。従って、表4に示されるmRNA発現レベルについての数値は、表5に示される数値と直接は比較し得ない。

【0053】

表5に示される数字は、27対の対等サンプルにおける、胸腺（キャリブレータ）に比較したMam002 (SEQ ID NO: 1) の相対発現レベルである。各対等の対には、同一の個人に由来する、特定組織の癌サンプルとその同一組織の正常隣接組織（NAT）サンプルが含まれる。さらに、正常組織由来の2つの非対等乳房サンプルと、1つの非対等卵巣癌及び1つの正常（非癌性）卵巣サンプルも試験した。

【0054】

【表5】

表5：個別サンプルにおけるMam002 (SEQ ID NO: 1) の相対発現レベル

サンプルID	組織	率	対等の正常
Mam 12X	乳腺	7. 2	69
Mam 42DN	乳腺	1051	2075
Mam 59X	乳腺	7. 0	15. 5
Mam A06X	乳腺	1655	1781
Mam B011X	乳腺	32. 1	2311
Mam S127	乳腺	1. 73	0
Mam S516	乳腺	9. 72	69. 95
Mam S699	乳腺	83. 46	75. 65
Mam S854	乳腺	133. 23	836. 56
Mam S967	乳腺	59. 77	188. 28
Mam S997	乳腺	94. 14	73. 64
Mam 162X	乳腺	674. 0	31. 1
Mam C012	乳腺	N/A	N/A 11379. 3
Mam C034	乳腺	N/A	N/A 3502. 6
Mam S079	乳腺	11772. 5	903. 5
Mam S123	乳腺	3. 4	170. 5
Ovr 103X	卵巣	0	0
Ovr 1118	卵巣	0. 13	N/A
Ovr 35GA	卵巣	N/A	N/A 0. 13
Utr 23XU	子宮	5. 6	0
Utr 135XO	子宮	0	0
Cvx NK24	頸部	0. 9	1. 4
End 4XA	子宮内膜	32. 2	0
Cln AS43	結腸	2. 3	0
Cln AS45	結腸	0	0
Cln RC01	結腸	0. 2	0
Lng AC90	肺	0	2. 0
Lng LC109	肺	0	0. 6
Lng SC32	肺	0. 8	0
Sto AC93	胃	0	0
Tst 39X	精巢	1. 97	0

【0055】

9種の異なる組織を代表する表5の58サンプルのなかで、最高の発現が見られるのは乳房組織である。発現を示す非乳房組織のなかで試験した大多数の乳房サンプルに匹敵する発現を示したのは1つのサンプル (End 4XA) だけである。このサンプルは子宮内膜組織であり、これは女性特有の組織である。上記の結果は、表4に示した正常サンプルについて得られた組織特異性の結果を追認する。表4及び表5は、17種のヒト組織型で合わせて全70種のサンプルを表す。乳房を除く11種の異なる組織型を代表する22個のサンプルではMam002 (SEQ ID NO: 1) のmRNAは検出されなかった (表4及び5)。

【0056】

同一の個人由来の乳癌サンプルと正常隣接組織のmRNA発現レベルを比較したものを見ると、13の対等乳癌組織のうち、Mam002 (SEQ ID

NO:1) が対応する正常隣接組織に比べてより高いレベルで発現されているのは3つ(サンプル: Mam S127, Mam 162X及びMam S079)である。乳癌におけるMam002 (SEQ ID NO:1) の発現レベルが正常隣接組織に比較して低いのは8人のサンプル (Mam 12X, Mam 42DN, Mam 59X, Mam B011X, Mam S516, Mam S854, Mam S967及びMam S123) である。同等レベル又は近似レベルの発現が検出されたのは他の3つの対等サンプル (サンプル: Mam A06X, Mam S699及びMam S997) である。

【0057】

この高レベルの組織特異性は、Mam002 (SEQ ID NO:1) がmRNAを用いて乳癌細胞を検出するための診断マーカーになることを裏付けている。乳房組織は、この遺伝子の発現がこれまでに検出された唯一の有意な源である。13の対等サンプルのうち8つが正常隣接組織より癌においてより低い発現を有する。従って、この遺伝子の発現減少が癌の存在の診断となる可能性がある。

SEQ ID NO:4; クローンID: 2613064; 遺伝子ID: 27052 (Mam004) の測定

表6に示す数字は、乳房(キャリブレータ)に比較した12種の正常組織におけるMam004 (SEQ ID NO:4) の相対発現レベルである。これらのRNAサンプルは、市販品から入手したものと様々な個人の特定組織由来のサンプルをプールして產生したものである。

【0058】

【表6】

表6：プールしたサンプルにおけるMam004 (SEQ ID NO: 4) の相対発現レベル

組織	正常
脳	0. 059
心臓	0. 131
腎臓	0. 018
肝臓	0
肺	0. 478
乳房	1. 000
前立腺	0. 459
筋肉	0. 003
小腸	0. 048
精巣	0. 130
胸腺	0. 030
子宮	0. 071

【0059】

表6の相対発現レベルは、Mam004 (SEQ ID NO: 4) のmRNA発現が正常な乳房と、肺、前立腺、精巣及び心臓を含む他の組織のプールで検出されることを示す。上記の結果は、正常な乳房組織においてより高く発現されるものの、Mam004 (SEQ ID NO: 4) のmRNA発現が乳腺に特異的はないことを示す。

【0060】

表6に示す組織は様々な個人からプールされたサンプルである。表7に示す組織は各個人から得たものであり、プールされたものではない。従って、表6に示されるmRNA発現レベルについての数値は、表3に示される数値と直接は比較し得ない。

【0061】

表7に示される数字は、23対の対等サンプルにおける、乳房（キャリブレータ）に比較したMam004 (SEQ ID NO: 4) の相対発現レベルである。各対等の対には、同一の個人に由来する、特定組織の癌サンプルとその同一組織の正常隣接組織（NAT）サンプルが含まれる。

【0062】

【表7】

表7：個別サンプルにおけるMam004 (SEQ ID NO: 4) の相対発現レベル

サンプルID	組織	癌	対等の正常
Mam 12B	乳腺	0	0
Mam 12X	乳腺	13.454	0
Mam 603X	乳腺	30.484	0
Mam 59X	乳腺	1.306	0
Mam 162X	乳腺	0.71	0.04
Mam 42DN	乳腺	0.25	2.17
Mam S079	乳腺	42.18	0.47
Mam S123	乳腺	0.01	0
Mam S516	乳腺	1.17	0.41
Mam S699	乳腺	0.11	0.55
Mam S997	乳腺	10.43	1.29
Sto AC44	胃	0.61	0
Cln SG45	結腸	0.04	0
Cln TX01	結腸	0	0
Cvx NK23	頸部	0	0
Cvx NK24	頸部	0	0
Endo 3AX	子宮内膜	0	0
Endo 4XA	子宮内膜	0	0
Endo 5XA	子宮内膜	0	2.73
Kid 11XD	腎臓	0	0
Kid 5XD	腎臓	0	2.63
Lng C20X	肺	0	0
Lng SQ56	肺	10.37	0

【0063】

7種の異なる組織を代表する表7の46サンプルのなかで、発現が最も高いのは乳房組織、特に癌である。乳房サンプルに見られるものに匹敵する発現が見られるのは、4つの肺サンプルの1つ（サンプル23）、4つの腎臓サンプルの1つ（サンプル21）、及び6つの子宮内膜サンプルの1つ（サンプル19）である。表6及び表7は、16種のヒト組織型で合わせて全58種のサンプルを表す。乳房を除く7種の異なる組織型を代表する20個のサンプルではMam004 (SEQ ID NO: 4) のmRNAは検出されなかった（表6及び7）。

【0064】

同一の個人由来の乳癌サンプルと正常隣接組織のmRNA発現レベルを比較したものを見た。11の乳癌組織のうち、Mam004 (SEQ ID NO: 4) が対応する正常隣接組織に比べてより高いレベルで発現されているのは8つ（Mam 12X、Mam 603X、Mam 59X、Mam 162X、Mam S079、Mam S123、Mam S516及びMam S997）。

7) である。乳癌におけるMam004 (SEQ ID NO: 4) の発現レベルが正常隣接組織に比較して低いのは2つの対等サンプル (Mam 42DN及びMam S699) である。発現が検出されなかったのは1つの対等サンプルセット (Mam 12B) である。

【0065】

正常隣接組織に比較して大多数の対等癌サンプルで発現が上昇していることは、Mam004 (SEQ ID NO: 4) がmRNAを用いて乳癌細胞を検出するための診断マーカーになることを裏付けている。

SEQ ID NO: 3; クローンID: y155b03; 遺伝子ID: 348845 (Mam005) の測定

表8に示す数字は、精巣 (キャリブレータ) に比較した12種の正常組織におけるMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現レベルである。これらのRNAサンプルは、市販品から入手したものと様々な個人の特定組織由来のサンプルをプールして產生したものである。

【0066】

【表8】

表8: プールしたサンプルにおけるMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現レベル

組織	正常
脳	0
心臓	0.0002
腎臓	0.0001
肝臓	0
肺	0
乳房	5.4076
筋肉	0
前立腺	0
小腸	0
精巣	1
胸腺	0
子宮	0

【0067】

表2の相対発現レベルは、Mam005 (SEQ ID NO: 3) のmRNA発現が正常な乳房及び精巣のプールでは検出されるものの、分析した他の10

種の正常組織プールでは有意なレベルで検出されないことを示す。上記の結果は、Mam005 (SEQ ID NO: 3) のmRNA発現が乳房組織にごく特異的であり、精巣にも見出されることを示す。男性特有の組織における発現は女性特有の組織の癌を検出することに無関係である。

【0068】

表8に示す組織は様々な個人からプールされたサンプルである。表9に示す組織は各個人から得たものであり、プールされたものではない。従って、表8に示されるmRNA発現レベルについての数値は、表9に示される数値と直接は比較し得ない。

【0069】

表9に示される数字は、46対の対等サンプルにおける、精巣（キャリブレータ）に比較したMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現レベルである。各対等の対には、同一の個人に由来する、特定組織の癌サンプルとその同一組織の正常隣接組織サンプルが含まれる。さらに、正常組織由来の2つの非対等乳房サンプルと、1つの非対等卵巣癌及び1つの正常（非癌性）卵巣サンプルも試験した。

【0070】

【表9】

表9：個別サンプルにおけるMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現レベル

サンプルID	組織	発現	対等の正常
Mam 12X	乳腺	0.33	0.71
Mam 42DN	乳腺	0.22	0.63
Mam 59X	乳腺	0.03	0.23
Mam A06X	乳腺	70.77	0.56
Mam B011X	乳腺	0.03	1.52
Mam 162X	乳腺	0.43	0.09
Mam C012	乳腺	N/A	N/A
Mam C034	乳腺	N/A	N/A
Mam S079	乳腺	0.22	0.13
Mam S123	乳腺	0.01	0.23
Mam S127	乳腺	0	0.28
Mam S516	乳腺	0.15	0.05
Mam S699	乳腺	0.21	0.42
Mam S854	乳腺	1.12	0.54
Mam S967	乳腺	30.61	0.54
Mam S997	乳腺	0.40	0.22
Mam 14DN	乳腺	0.07	0
Mam 699F	乳腺	0.01	0.09
Mam S621	乳腺	1.82	0
Mam S918	乳腺	6.89	1.06
Cln CM67	結腸	0	0
Cln DC19	結腸	0	0
Cln AS43	結腸	0	0
Cln AS45	結腸	0	0
Cln RC01	結腸	0.0012	0.0003
Lng AC90	肺	0	0
Lng LC109	肺	0	0
Lng SQ32	肺	0	0
Lng SQ43	肺	0	0
Ovr 103X	卵巣	0	0
Ovr 1118	卵巣	0	N/A
Ovr A084	卵巣	0	0
Ovr G021	卵巣	0	0
Ovr 35GA	卵巣	N/A	N/A
Cvx NK23	頸部	0	0
Cvx NK24	頸部	0	0
Endo 3AX	子宮内膜	0	0
End 4XA	子宮内膜	0	0
Sto 758S	胃	0	0
Sto AC44	胃	0	0
Sto AC93	胃	0	0
Tst 39X	精巣	0.01	0.01
Utr 85XU	子宮	0	0
Utr 135XO	子宮	0	0
Utr 23XU	子宮	0	0
Kid 124D	腎臓	0	0
Lvr 15XA	肝臓	0	0
Pan CO44	脾臓	0	0
Skn 448S	皮膚	0	0
SmInt 21XA	小腸	0	0

【0071】

14種の異なる組織を代表する表9の96サンプルのなかで、有意な発現が見られるのは乳房組織だけである。上記の結果は、表8に示した正常サンプルについて得られた組織特異性の結果を追認する。表8及び表9は、18種のヒト組織

型で合わせて全108種のサンプルを表す。乳房及び精巣を除く16種の異なる組織型を代表する67個のサンプルではMam005 (SEQ ID NO:3) のmRNAはまったく検出されなかつたか、又はごく低いレベルの検出しかなかつた(表8及び9)。

【0072】

同一の個人由来の乳癌サンプルと正常隣接組織のmRNA発現レベルを比較したものを見表9に示す。18組の癌及び正常サンプルのうち、Mam005 (SEQ ID NO:3) が対応する正常隣接組織に比べてより高いレベルで発現されているのは10組 (Mam A06X, Mam 162X, Mam S079, Mam S516, Mam S854, Mam S967, Mam S997, Mam 14DN, Mam S621及びMam S918) である。乳癌におけるMam005 (SEQ ID NO:3) の発現レベルが正常隣接組織に比較して低いのは8つの癌及び正常隣接組織サンプル (Mam 12X, Mam 42DN, Mam 59X, Mam B011X, Mam S123, Mam S127, Mam S699及びMam S699F) である。発現が検出されなかつたのは2つの対等サンプルである。

【0073】

18の対等な癌及び正常隣接組織サンプルのうち10で見られた高レベルの組織特異性及び過剰発現は、Mam005 (SEQ ID NO:3) がmRNAを用いて乳癌細胞を検出するための診断マーカーになることを裏付けている。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Sun, Yongming
Recipon, Herve
Cafferkey, Robert
DIADEXUS LLC

<120> A NOVEL METHOD OF DIAGNOSING, MONITORING, STAGING ,
IMAGING AND TREATING BREAST CANCER

<130> DEX-0040

<140>
<141>

<150> 60/095,232
<151> 1998-08-04

<160> 9

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1
<211> 544
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (505) .. (506)

<220>
<221> unsure
<222> (510)

<220>
<221> unsure
<222> (521)

<220>
<221> unsure
<222> (527) .. (528)

<220>
<221> unsure
<222> (531)

<220>

<210> 3
<211> 649
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 3
gcaatgttta atatctcata agctatacac acctcgaagc catcaatgac aaccctttct 60
tgctgaatag aacagtgatt gatgtcatga agacaattttt atctccctttt gccttcata 120
atttgtacca gtttatataa tagtataaca ctgccaagga gggattttt tcatcttcat 180
cctgttaatcc cagtgtttgt cactgttttgc ttgaaataat gaataaagaa tgagaaaacc 240
agaagctctg atacataatc ataatgataa ttatttcaat gcacaactac ggggtgtct 300
gaactagaat ctatatttc tgaaaactggc tcctcttagga tctactaatg atttaaatct 360
aaaagatgaa gttgttaaag catcaaaaaaa aaaaggtaaa caaattgctc ctgtggagat 420
gattggcatc acatgggtt ttgagctgtat acacccaaaca cttgagctca ctgcaacagt 480
accagattt caccgtatg cctcccttca ctctggaggt ctccagagg tcttgactc 540
gggagagcat gctcagggtt ccccaagctc acaaaatcac ccagaatgcc aaagacttca 600
acacaagggt aaataagggtt gatctcagaa ttgtcacctc aaaaaggcc 649

<210> 4
<211> 388
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (378)

<220>
<221> unsure
<222> (385)

<400> 4
agctgctcaa tacggAACAT attctcagtc ctcctctggc ctacaAGCC tggattttct 60
tgtctatggc cagaacgtct ggtttaatct acagggAACCC ataacttcgtt gaagctttat 120
gcttaacagt gacaacgtga gtcagttgaa ttttattttgtt tttcagtcgg tagatattta 180
gcttaacagaa acctttccat tgcataactg agaaaactggc agcaggcgtt gtgcctacag 240
gtctacaaag aaacttcaga tcatactttt gaggggaaaga agctgaagtgc ctacataaaga 300
tgcttgtct tcataactct cagaaggtgc agattctgtt taaatcccttta gaaaagagca 360
tccccctgaat ccataaaangt atatngcgtt 388

<210> 5
<211> 1227
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (327)

<220>
<221> unsure
<222> (201)

<220>
<221> unsure
<222> (205)

<220>
<221> unsure
<222> (238)

<220>
<221> unsure
<222> (241)..(242)

<220>
<221> unsure
<222> (250}

<400> 6
gaacagcctc acttgtgttg ctgtcagtgc cagtagggca ggcaggaatg cagcagagag 60
gactcgccat cgtggccttg gctgtctgtg cggccctaca tgcctcagaa gccatacttc 120
ccattgcctc cagctgtgc acggaggttt cacatcatat ttccagaagg ctccctggaaa 180
nagtgaatat gtgtcgcatc naganagctg atggggatgg tgacttggct gctgtcancc 240
nnncatgtcan gcg 253

<210> 7
<211> 943
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (128)

<220>
<221> unsure
<222> (130)

<220>
<221> unsure
<222> (925)

<400> 7
ggggggctgg cccccggccccc tgtgaggacc ccgcgggtgc tggggtaaga ggctctagac 60
ccttcacctg tcagtcacct gagggaggct gagggcaagc cccatccctc agaatcaagg 120

cttgcaanen ccccteacct gcccagtetc tgtccacacc cctcgggctg aagacggccc 180
 tgaccaggcc ctgggcctca ggcacccatccc ctccccctcc tgcctggacc cggggacag 240
 gtgcaggggg ctccgagccc ctgtgactg tcaccgtgca gtgcgcctc acagtggccc 300
 tgagggcacg aagaggagcc gacccgttcca gcttcgggc actgtgggc caagccctcc 360
 ctcaaccaggc ccagctggg caactcaggc ggccagaaa gccccggg gctgcgggtgg 420
 agctggcac cgccccact gagggcggctg ctggaaaggagg ggggtggcaga ggtcactgccc 480
 ctccctgcaag gccccaccca ggagggcccc tctgaggaat ctcttgcag ttaccttagcc 540
 ccaggtgagg acgggcaactg ggtccccatc cccgaggagg agtcgcgtgca gggggctgg 600
 caggacgcag ctgcctggcc cagggggctg cagctgcagt gcaggggagc cgggggtcg 660
 cccgttctct accagggtgg ggcggcagcac agctactccg cccagggggcc agaggacctg 720
 ggcttccgac agggggacac ggtggacgctc ctgtgtgaag tggaccaggc atggctggag 780
 gggcaactgtg acggccgtatc cggcatcttc cccaaatgtct tcgtggtccc cggggccct 840
 cggatgtca gggccccggg cggccgtcccc cggatcccgac agggagatca gccctaataatga 900
 tgctgtgtcc atgatgtttt taatnaaaaa aaccccccact gca 943

<210> 8
 <211> 249
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> unsure
 <222> (48)

<220>
 <221> unsure
 <222> (110)

<220>
 <221> unsure
 <222> (192)

<220>
 <221> unsure
 <222> (205)

<220>
 <221> unsure
 <222> (218)

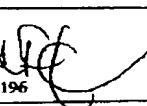
<400> 8
 atcacattaa gtcattgtca attttataaa caaaaacaat gtttttattt tgcatttccc 60
 tgatggat tgcgttagaa catatggaa gaagtttgg tgcattttgg gtttatttca 120
 tgaatagatt gtgtcccat ttctcttgg ggtattcagt tttttatttac tgcgtgtggc 180
 atgtgtatgg gngatttattt gatgttttac agttttggntt agtagactgg caatatttag 240
 tcttgctgt 249

<210> 9

<211> 690
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
gacgccccagt gacctggcgs ggtcggcagc acagagctct ggagatgaag accctgttcc 60
tgggtgtcac gctcggcctg gccgctgccc tgccttcac cctggaggag gaggatatca 120
cagggacctg gtacgtgaag gccatgggg tcgataagga ctttccggag gacaggaggc 180
ccaggaaggt gtcccccagt aaggtgacag ccctgggcgg tgggaagttt gaagccacgt 240
tcacccatc gagggaggat cggtgcattcc agaagaaaat cctgatgcgg aagacggagg 300
agcctggcaa atacagcgc tatggggca ggaagctcat gtacctgcag gagctgcccc 360
ggagggacca ctacatctt tactccaaag accagcacca tgggggcctg ctccacatgg 420
gaaagcttgggtt gggtagaaat tctgataccatcc accggggaggc cctggaaagaa tttaagaaat 480
tggtgccagcg caagggactc tcggaggagg acatttcac gcccctgcag acgggaagct 540
gcgttcccgaa acacttagcc gccccccgggt ctgcacccatcc agagccccacc ctaccacca 600
acacagaggcc cggaccacct ggacttaccatcc tccagccatg acccttccct gctcccaccc 660
acctgactcc aaataaagtcc ttctcccccc 690

〔国際調査報告〕

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US99/16611
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(6) :Please See Extra Sheet. US CL :435/6, 7.1, 91.2; 536/23.5, 24.31; 424/174.1; 530/388.1, 388.8 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/6, 7.1, 91.2; 536/23.5, 24.31; 424/174.1; 530/388.1, 388.8		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Extra Sheet.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5,668,267 A (WATSON et al) 16 September 1997, columns 6 and 7.	1-5
Y	WO 98/18945 A (ABBOTT LABORATORIES) 07 May 1998, pages 4, 7, 46 and 87.	1-5, 7, 9
X	US 5,759,776 A (SMITH et al) 02 June 1998, column 16.	1
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "C" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reasons (as specified) "D" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other events "E" document not published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 21 SEPTEMBER 1999		Date of mailing of the international search report 20 OCT 1999
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer CARLA MYERS  Telephone No. (703) 308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US99/16811
<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER: IPC (6):</p> <p>C12Q 1/68; C12P 19/34; C07H 21/04; A61K 16/00; G01N 33/53</p> <p>B. FIELDS SEARCHED Electronic data bases consulted (Name of data base and where practicable terms used):</p> <p>APS; WEST Derwent files; DIALOG; Medline, Biosis, Embase, SciSearch, CA; GenBank/EMBL, n-GenSeq search terms: breast, mammary, tumor, carcinoma, cancer, mRNA, protein, antibody, SEQ ID NO: 1-5</p>		

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード(参考)
A 61 P 35/00		C 07 K 16/32	
C 07 K 16/32		C 12 Q 1/02	
C 12 Q 1/02			1/68 Z N A A
1/68 Z N A		A 61 K 49/02	A
(72)発明者 レシボン, ハーヴ アメリカ合衆国カリフォルニア州94115, サン・フランシスコ, フォートゥナ・アベ ニュー 85			
(72)発明者 カファーキー, ロバート アメリカ合衆国カリフォルニア州95134, サン・ホセ, エラン・ヴィレッジ・レイン 350, アパートメント 218			
F ターム(参考) 4B063 QA19 QQ02 QQ03 QQ79 QQ96 QR48 QS33 QX01 4C085 AA13 AA19 AA26 AA27 BB01 CC21 CG01 HH03 HH07 KA03 KA28 KA29 KB07 KB09 KB12 KB15 KB18 LL18 4H045 AA11 BA10 BA50 BA71 CA40 DA76 EA28			

* NOTICES *

JP0 and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

Translation of
JP 2002-522751

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] the approach of diagnosing existence of a breast cancer in a patient — it is — (a) — measuring-level of BSG in said patient's cell, organization, or body fluid; — and — Said approach by which change of the BSG level by which the patient to normal Homo-sapiens contrast was measured coming [comparing with the level of BSG of the cell of the normal Homo-sapiens contrast origin, an organization, or body fluid the level of BSG by which (b) measurement was carried out] is related with existence of a breast cancer.

[Claim 2] It is the approach of diagnosing the transition breast cancer of the patient who has a breast cancer. The patient who has the breast cancer by which having carried out (a) transition is not known is identified.; (b) measuring-level of BSG in sample of cell [of said patient origin], organization, or body fluid; — and — Said approach related with the breast cancer which change of a patient's measurement BSG level to normal Homo sapiens contrast transferred coming [comparing with the BSG level of the cell of normal Homo sapiens contrast, an organization, or a body fluid mold the BSG level by which (c) measurement was carried out].

[Claim 3] It is the approach of carrying out staging of a patient's breast cancer. The patient who has the (a) breast cancer is identified;

(b) measuring-level of BSG in sample of cell [of said patient origin], organization, or body fluid; — and — or [that change of the BSG level by which said patient to normal Homo-sapiens contrast was measured coming / comparing with the BSG level of the cell of a normal Homo-sapiens contrast sample, an organization or a body-fluid mold the BSG level by which (c) measurement was carried out / is advancing] — or said approach which is carrying out regression or is related with the cancer in a remission condition.

[Claim 4] It is the approach of supervising about the onset of transition of the breast cancer of the patient who has a breast cancer. The patient who has the breast cancer by which having carried out (a) transition is not known is identified.;

(b) measuring-periodically-cell [of said patient origin], organization, or BSG level in sample of body fluid; — and — Said approach related with the cancer which change of a patient's BSG level to normal Homo sapiens contrast transferred coming [comparing with the BSG level of the cell of normal Homo sapiens contrast, an organization or a body fluid mold the BSG level by which (c) measurement was carried out].

[Claim 5] It is the approach of supervising phase change of the breast cancer of the patient who has a breast cancer. The patient who has the (a) breast cancer is identified.;

(b) measuring-periodically-cell [of said patient origin], organization, or BSG level in sample of body fluid; — and — the BSG level by which (c) measurement was carried out — the cell of normal Homo sapiens contrast — Said approach related with the cancer to which change of the BSG level by which the patient to normal Homo sapiens contrast was measured coming [comparing with the BSG level of an organization or a body fluid mold] is advancing in a phase, and which is backing in a phase or is in a remission condition.

[Claim 6] The approach according to claim 1, 2, 3, 4, or 5 change related with existence of the breast cancer in said patient, transition, or progress is the increment in the BSG level by which the patient was measured, and BSG contains Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam004 (SEQ ID NO:4), or Mam005 (SEQ ID NO:3).

[Claim 7] The approach according to claim 1, 2, 3, 4, or 5 change related with existence of the breast cancer in said patient, transition, or progress is reduction of the BSG level by which the patient was measured, and BSG contains Mam002 (SEQ ID NO:1).

[Claim 8] The approach according to claim 3 or 5 change related with the regression or remission of a breast cancer in said patient is reduction of the BSG level by which the patient was measured, and BSG contains Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam004 (SEQ ID NO:4), or Mam005 (SEQ ID NO:3).

[Claim 9] The approach according to claim 3 or 5 change related with the regression or remission of a breast cancer in said patient is the increment in the BSG level by which the patient was measured, and BSG contains Mam002 (SEQ ID NO:1).

[Claim 10] The antibody to said BSG in which BSG contains Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam004 (SEQ ID NO:4), or Mam005 (SEQ ID NO:3).

[Claim 11] How to image the breast cancer of the patient who comes to contain medicating a patient with an antibody according to claim 10.

[Claim 12] The approach according to claim 11 to which the indicator of said antibody is carried out with paramagnetic ion or radioisotope.

[Claim 13] How to treat the breast cancer of the patient who comes to contain medicating a patient with an antibody according to claim 10.

[Claim 14] The approach according to claim 13 which the antibody has combined with cytotoxic medicine.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

Field of invention This invention relates to the assay which has developed cancer, especially a breast cancer newly [detection, a diagnosis, a monitor, staging, and in order to foreknow image and treat] in part.

Background technique In an American woman, the symptoms of a breast cancer are shown at the stage when one person has life to the nine persons, using average life as 85 years old. Every year and 180,000 or more U.S. women are diagnosed as a breast cancer, and about 46,000 persons die of this disease.

[0002]

Any women have risk of suffering from a breast cancer. ; which possibility of showing the symptoms of a breast cancer increases with aging -- 80% of the woman by whom cancer is discovered is 50 or more years old. Some risk factor which can raise female oncogenesis possibility also exists. That risk of the woman who has the family history of this disease, the woman who bore the first child after 30 years old, or has not borne a child, and the woman from whom menstruation began early may be high.

[0003]

However, there is no risk factor of the woman who shows the symptoms of a breast cancer known at 70% or more. The case of the breast cancer which can consider relation with BRCA1 gene discovered in 1994 is not filled to 10%. Researchers are inquiring about the role which a nutrition, alcohol, motion, smoking, and other factors like an oral contraceptive can play in prevention of cancer.

[0004]

The time of being discovered at an early stage has highest possibility that a breast cancer will be treated successfully, like other cancers. The mammogram which is the special X-ray photograph of an udder can detect 90% or more of whole milk cancer. If a breast cancer is discovered at an early stage, the possibility of recovery will be 90% or more. There are a surgical operation, a chemotherapy, and radiotherapy in a therapy option by the stadium (stage) of cancer.

[0005]

Detection of a breast cancer, a diagnosis, a monitor, staging, and the approach used in order to foreknow and image are very important for a patient's out cam. The five years survival rate of the patient diagnosed as an early breast cancer is high much as compared with the five years survival rate of the patient diagnosed as a distant metastasis breast cancer. It is clear that the new diagnostics more specific than that for detecting an early breast cancer at high sensitivity is needed.

[0006]

It is supervised careful [a milk cancer patient] between adjuvant therapies after a first time therapy, the responsibility over a therapy is judged, and the transition disease of durability or recurrence nature is detected. It is also clear that there are needs to a breast cancer marker more specific at high sensitivity which detect a breast cancer, its relapse, and progress.

[0007]

Another important process of managing a breast cancer is determining the stadium of a patient's disease. There is potential prognosis value in staging and the decision criterion for designing the optimal cure is offered. Generally, what is more desirable than staging with the pathological clinical staging of a breast cancer is because the former brings about a more exact prognosis. However, if clinical staging is also as exact as [at least] pathological staging, it will be a desirable thing. It is because it is not dependent on the invasion-approach of extracting an organization for pathological assessment. The staging of a breast cancer will improve, if the new

marker in the cell and organization which can differentiate various seepage phases, or body fluid is detectable.
[0008]

In this invention, detection, a diagnosis, a monitor, staging, and the approach of foreknowing, imaging and treating are provided with a breast cancer through nine sorts of breast cancer unique genes (Breast Specific Genes; BSG). Nine sorts of BSG(s) are SEQ. ID Especially the NETIBU protein discovered by the gene which comes to contain one polynucleotide array of NO:1-9 is meant. It is SEQ which is meant by nine sorts of BSG(s) in other ways so that it may be used on these descriptions. ID NETIBU mRNA in which a code is carried out by the gene which comes to contain either of the polynucleotide arrays of NO:1-9 is meant, or it is SEQ. ID The gene itself which comes to contain either of the polynucleotide arrays of NO:1-9 is meant.

[0009]

Other objects, descriptions, effectiveness, and side faces of this invention will become clear [to this contractor] from the following explanation. However, the following explanation and a specific example show the desirable mode of this invention, and are a thing only for instantiation. Probably, it will be clear to this contractor immediately to carry out various modification and amelioration in the pneuma of this invention indicated and the range, since other parts of reading the following explanation and this disclosure are read.

Epitome of invention By analyzing the level of BSG of a cell, an organization, or body fluid about the change when comparing with the cell of the same mold, an organization, or the BSG level of body fluid preferably of normal Homo sapiens contrast for the above and other objects, it is the object of this invention to offer the approach of diagnosing existence of a breast cancer, and change of a patient's BSG level to normal Homo sapiens contrast is related with a breast cancer here.

[0010]

Being provided furthermore identifies a Homo sapiens patient with the misgiving which has the transferred breast cancer.; The cell of such the patient origin, Such a cell, an organization, or the BSG level of body fluid The sample of an organization or body fluid is analyzed about BSG.; by [of normal Homo sapiens contrast] comparing with the cell of the same mold, an organization, or the BSG level of body fluid preferably It is the approach of diagnosing a transition breast cancer in the patient who has cancer [having transferred] from which it is not known, and is related with the cancer which change of a patient's BSG level to normal Homo sapiens contrast transferred here.

[0011]

Being provided by this invention again identifies the Homo sapiens patient who has a breast cancer.; The cell of such the patient origin, Such a cell, an organization, or the BSG level of body fluid The sample of an organization or body fluid is analyzed about BSG.; by [of a normal Homo sapiens contrast sample] comparing with the cell of the same mold, an organization, or the BSG level of body fluid preferably or [that are the approach of carrying out staging of the breast cancer of the Homo sapiens who has such cancer, and change of said patient's BSG level to normal Homo sapiens contrast is advancing here] — or regression is carried out or it is related with the cancer in a remission condition.

[0012]

Furthermore, the approach of supervising about the onset of transition of the breast cancer of the Homo sapiens who has a breast cancer is provided. The Homo sapiens patient who has the breast cancer by which having transferred this approach is not known is identified.; The cell of such the patient origin, The sample of an organization or body fluid is periodically analyzed about BSG.; Such a cell, It is related with the cancer to which change of a patient's BSG level to normal Homo sapiens contrast transferred an organization or the BSG level of body fluid here including the thing of a normal Homo sapiens contrast sample preferably compared with the cell of the same mold, an organization, or the BSG level of body fluid.

[0013]

Furthermore, the approach of supervising phase change of the breast cancer of the Homo sapiens who has such cancer is provided by gazing at the level of BSG of the patient who has a breast cancer. That this approach identifies the Homo sapiens patient who has such cancer, the cell of such the patient origin, The sample of an organization or body fluid is periodically analyzed about BSG.; Such a cell, A normal Homo sapiens contrast sample preferably an organization or the BSG level of body fluid The cell of the same mold, or [that change of a patient's BSG level to normal Homo sapiens contrast is advancing here including comparing with an organization or the BSG level of body fluid] — or it is backing or is related with the cancer in a remission condition.

[0014]

Furthermore, the fragmentation of the antibody to BSG which can be used in order to detect or diagnose a

disease or symptoms and to detect or image localization of a patient's BSG, or such an antibody is provided. Such an antibody may be a polyclonal or a monoclonal, or can be manufactured with the technique of molecular biology. The vocabulary a "antibody" is mentioned as SELEX and is well known by this contractor so that it may be used through the text and this description. *in vitro* It means also including APUTAMA and a single-stranded oligonucleotide which are derived from the protocol of evolution. Although the indicator of the antibody may be carried out with various detection labels, and not limited to it, radioisotope and a paramagnetism metal are contained. Such antibody or its fragmentation may be used again as a remedy in the treatment of the disease characterized by the manifestation of BSG, or [induction-izing an antibody to radioisotope, an enzyme, a toxin, a drug, or cytotoxic medicine like a prodrug in therapy application] — or it can be used, without induction-izing. [0015]

Other objects, descriptions, effectiveness, and side faces of this invention will become clear [to this contractor] from the following explanation. However, the following explanation and a specific example show the desirable mode of this invention, and are a thing only for instantiation. Probably, it will be clear to this contractor immediately to carry out various modification and amelioration in the pneuma of this invention indicated and the range, since other parts of reading the following explanation and this disclosure are read.

Detailed description This invention relates cancer to quantitative and qualitative the diagnostic assay and the approach detection, a diagnosis, a monitor, staging, and for foreknowing and imaging by comparing the level of BSG with the BSG level of normal Homo sapiens contrast. The level of BSG is SEQ so that it may be used on these descriptions. ID The level of the NETIBU protein discovered by the gene which comes to contain one polynucleotide array of NO:1-9 is meant. The level of BSG is SEQ so that it may be used on these descriptions in other ways. ID The NETIBU level of mRNA to which the code also of any of the gene which it comes [any of the polynucleotide array of NO:1-9 or] to contain is carried out, or SEQ ID The level of the gene which comes to contain either of the polynucleotide array of NO:1-9 is meant. Such level is preferably measured by at least one of a cell, an organization, and/or the body fluid, and the quantum of normal and unusual level is also contained. The diagnostic assay by this invention which measures the change in one level of a BSG protein group in this way as compared with the body fluid of normal contrast, a cell, or the sample of an organization may be used in order to diagnose the existence of cancer including a breast cancer. "Change" means either the increment in BSG level, or reduction. For example, in BSG like Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam004 (SEQ ID NO:4), and Mam005 (SEQ ID NO:3), the reduction in level is related with regression and/or remission to the increment in the level in comparison with normal Homo sapiens contrast relating to transition and progress of a breast cancer and its cancer. BSG In Mam002 (SEQ ID NO:1), an increment is related with regression and/or remission to reduction of the level in comparison with normal Homo sapiens contrast relating to a breast cancer, transition, and progress. nine sorts of BSG(s) — the approach of this invention — setting — independent — or the nine sorts — it is all together or may be measured in the combination of arbitration.

[0016]

All the approaches of this invention may include not only BSG but the thing for which the level of other cancer markers is measured by request. Not only BSG but other cancer markers like BRCA1 are known for this technical field.

Diagnostic assay This invention offers the approach of diagnosing existence of a breast cancer, by analyzing the level of BSG of a cell, an organization, or body fluid about the change when comparing with the level of BSG of a cell same type, an organization, or body fluid preferably of normal Homo sapiens contrast. As shown by this description, normal Homo sapiens contrast is received. By the patient Mam001 (SEQ ID NO:2), As opposed to it being related with existence of a breast cancer that level of BSG like Mam004 (SEQ ID NO:4) or Mam005 (SEQ ID NO:3) is increasing It is related with existence of a breast cancer that level of BSG like Mam002 (SEQ ID NO:1) is decreasing by the patient to normal Homo sapiens contrast.

[0017]

or the result of the positivity which shows that the patient examined generally has cancer by quantitative diagnostic assay although this invention is not limited has the cell, the organization, or body fluid level of a cancer marker like BSG twice [at least] as high as the same desirable cell, organization, or body fluid of normal Homo sapiens contrast — or [or / low / that it is at least 5 times higher most preferably] — or it is low.

[0018]

This invention offers the approach of diagnosing the transition breast cancer of the patient who has the breast cancer which has not been transferred yet again about the onset of transition. By the approach of this invention, the Homo sapiens cancer patient by whom having the breast cancer (having transferred not being known) which

may have been transferred is suspected is identified. This is attained by various means known by this contractor. For example, in the case of a breast cancer, generally, a patient is diagnosed as a breast cancer according to the former detecting method.

[0019]

It is useful to determine a cell, an organization, or existence of the BSG level of body fluid in this invention especially in order to distinguish the breast cancer which has not been transferred and the transferred breast cancer. With an existing technique, it is difficult to distinguish the transferred breast cancer and the breast cancer which has not been transferred, and selection of a suitable therapy is often influenced by such information.

[0020]

the cancer marker measured with such a cell, an organization, or body fluid in this invention — BSG — it is — the Homo sapiens contrast with the normal level — it is preferably compared with the cell of the same mold, an organization, or the BSG level of body fluid. That is, if the cancer marker observed is BSG of a blood serum, this level will be preferably compared with the BSG level of a normal Homo sapiens patient's blood serum. As opposed to normal Homo sapiens contrast by the patient Mam001 (SEQ ID NO:2), As opposed to being related with the breast cancer which it transferred that level of BSG like Mam004 (SEQ ID NO:4) or Mam005 (SEQ ID NO:3) is increasing It is related with the breast cancer which it transferred that BSG like Mam002 (SEQ ID NO:1) is decreasing by the patient to normal Homo sapiens contrast.

[0021]

or [being examined by quantitative diagnostic assay generally, although this invention is not limited] — or — or the result of the positivity which shows what a patient's cancer supervised transferred has the cell, the organization, or body fluid level of a cancer marker like BSG twice [at least] as high as a normal patient's same desirable cell, organization, or body fluid — or [or / low / that it is at least 5 times higher most preferably] — or it is low.

[0022]

By the Homo-sapiens patient who does not have cancer in normal Homo-sapiens contrast used on these descriptions, and/or the approach which the noncancerous sample of the patient origin is contained, and is diagnosed or supervised about; transition, normal Homo-sapiens contrast contains an early sample from the sample of the Homo-sapiens patient origin judged by the approach of trusting it if it has the breast cancer which has not been transferred, for example, that of the same patient, preferably.

Staging (staging)

This invention offers the approach of carrying out staging of a Homo sapiens patient's breast cancer again.

[0023]

This approach identifies the Homo sapiens patient who has such cancer.; it includes analyzing the sample of the cell of such the patient origin, an organization, or body fluid about BSG. By this approach, the sample of the Homo sapiens symmetry with normal such cell, organization, or BSG level of body fluid preferably Subsequently, the cell of the same mold, It is compared with an organization or the BSG level of body fluid, and normal Homo sapiens contrast is received here. By the patient Mam001 (SEQ ID NO:2), [whether level of BSG like Mam004 (SEQ ID NO:4) or Mam005 (SEQ ID NO:3) is increasing, and] Or it is related with the cancer to which that level of BSG like Mam002 (SEQ ID NO:1) is decreasing is advancing. [whether level of BSG like Mam001 (SEQID NO:2), Mam004 (SEQ ID NO:4), or Mam005 (SEQ ID NO:3) is decreasing, and] Or it is related with the cancer which that level of BSG like Mam002 (SEQ ID NO:1) is increasing is carrying out regression, or is in a remission condition.

Monitor (monitoring)

Furthermore, the approach of supervising about the onset of transition of the breast cancer of the Homo sapiens who has a breast cancer is provided. The Homo sapiens patient who has such cancer from which having transferred this approach is not known is identified.; The cell of such the patient origin, The sample of an organization or body fluid is periodically analyzed about BSG.; Such a cell, A normal Homo sapiens contrast sample preferably an organization or the BSG level of body fluid The cell of the same mold, Normal Homo sapiens contrast is received here including comparing with an organization or the BSG level of body fluid. By the patient Mam001 (SEQ ID NO:2), [whether level of BSG like Mam004 (SEQ ID NO:4) or Mam005 (SEQ ID NO:3) is increasing, and] Or it is related with the cancer which that level of BSG like Mam002 (SEQ ID NO:1) is decreasing transferred.

[0024]

The approach of supervising phase change of the cancer in the *Homo sapiens* who has a breast cancer is further provided by this invention. This approach identifies the *Homo sapiens* patient who has such cancer.; The cell of such the patient origin, The sample of an organization or body fluid is periodically analyzed about BSG.; Such a cell, A normal *Homo sapiens* contrast sample preferably an organization or the BSG level of body fluid The cell of the same mold, Normal *Homo sapiens* contrast is received here including comparing with an organization or the BSG level of body fluid. By the patient Mam001 (SEQ ID NO:2), [whether level of BSG like Mam004 (SEQ ID NO:4) or Mam005 (SEQ ID NO:3) is increasing, and] Or it is related with the cancer to which that level of BSG like Mam002 (SEQ ID NO:1) is decreasing is advancing in a phase. [whether level of BSG like Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam004 (SEQ ID NO:4) or Mam005 (SEQ ID NO:3) is decreasing, and] Or ** related with the cancer which that level of BSG like Mam002 (SEQ ID NO:1) is increasing is backing in a phase, or is in a remission condition.

[0025]

Supervising about the onset of transition of such a patient is periodical, and it is preferably made with the quarter base. However, frequency may be fluctuated depending on the cancer of this **, a specific patient, and the phase of cancer.

Assay technique In the sample originating in a certain host, the assay technique which can be used in order to carry out the quantum of the level of gene expression like BSG of this invention is well known to this contractor. In such an assay approach, they are radioimmunoassay, reverse transcriptase PCR (RT-PCR) assay, immunohistochemistry assay, and in situ. Hybridization assay, competitive joint assay, the Western blot analysis, ELISA assay, and pro TEOMIKKU approach are included. In order to diagnose the gene expression protein in a biological fluid in the above, ELISA is often desirable.

[0026]

ELISA assay includes the specific antibody to BSG, and manufacturing a monoclonal antibody preferably, when it cannot receive easily from a commercial item probably. Furthermore, generally the reporter antibody specifically combined with BSG is manufactured. Radioactivity, fluorescence or the reagent in which detection like the reagent of an enzyme is possible, for example, a horseradish peroxidase enzyme, and the alkaline phosphatase are attached to this reporter antibody.

[0027]

On the solid base material which combines an antibody specific to BSG with this antibody, for example, a polystyrene dish, in order to perform ELISA, it incubates. By incubating with nonspecific protein still like bovine serum albumin, the free protein bonding site on a dish is covered. Next, if it incubates in this dish, BSG will combine the sample which should be analyzed with the specific antibody attached to the polystyrene dish between them. An uncombined sample is washed out with the buffer solution. If the reporter antibody which it was turned to the BSG unique target and combined with horseradish peroxidase is put into a dish, this reporter antibody will combine with the monoclonal antibody combined with BSG. The reporter antibody which was not combined is flushed. The reagent containing a colorimetry substrate for peroxidase activity is added to a dish. The resultant which colored by the fixed peroxidase connected with the BSG antibody is produced. The amount of the color discovered in a certain fixed time amount is proportional to the amount of the BSG protein which exists in a sample. Generally, a standard curve is made reference and a quantitative result is obtained.

[0028]

A solid base material is made to pass the specific antibody of BSG which is possible also for using competitive assay and was attached to a solid base material and BSG by which the indicator was carried out here, and the sample of the host origin, and the amount of the detection label attached to the solid base material is made to correlate with the amount of BSG(s) in a sample.

[0029]

A nucleic-acid method can be used in order to detect mRNA of BSG as a marker of a breast cancer. Other nucleic-acid methods like magnification (NASABA) of polymerase chain reaction (PCR), a ligase chain reaction (LCR), and the nucleic-acid array base can use it in order to detect a malignant tumor cell to a diagnosis and the object for a monitor of various malignant diseases. For example, reverse transcriptase PCR (RT-PCR) is the powerful technique which can be used in order to detect existence of a specific mRNA ensemble in the complicated mixture of other mRNA kinds of thousands. ; to which reverse transcription of the mRNA kind is first carried out in RT-PCR to complementary DNA (cDNA) using the reverse transcriptase of an enzyme -- subsequently this cDNA is amplified in a standard PCR reaction. Thus, magnification of RT-PCR can show existence of a certain single mRNA kind. Therefore, if this mRNA is very specific into the cell which produces it,

existence of the cell of a particular type can be identified using RT-PCR.

[0030]

The hybridization to the clone (namely, GURIDDINGU) or oligonucleotide by which the array array was carried out on the solid base material is used, and it becomes possible to detect the gene expression concerned and to carry out the quantum of the manifestation level. In this approach, cDNA which carries out the code of the BSG gene is being fixed to the substrate. Although this substrate may be a thing suitable type, glass, a nitrocellulose, nylon, or plastics is included without limiting. Although a part of DNA [at least] which carries out the code of the BSG gene is attached to a substrate and subsequently being incubated with the analyte, this may be RNA isolated from the organization for an interest, or the complementary DNA (cDNA) of the RNA. That the hybridization of the DNA and the analyte which were combined with the substrate carries out radioactive labeling of the secondary molecule designed the analyte or for hybrid detection by various means, without [detection and] limiting to it although the quantum might be carried out, or carrying out fluorescent labeling are included. The quantum of gene expression level is made in the signal reinforcement of the analyte origin as compared with the reinforcement determined from the known criterion. A criterion is acquired by creating a standard curve using the in vitro imprint of a target gene, the quantum of yield, and its ingredient.

[0031]

In pro TEOMIKKU approach, 2-dimensional (2D) electrophoresis is the technique well known for this technical field. Isolating each protein from a sample like a blood serum is made by usually separating protein continuously with various properties on polyacrylamide gel. First, protein is separated by size using a current. Since a current acts on all protein uniformly, smaller protein moves distantly from larger protein in a gel top. At the second dimension, a vertical current is applied to the beginning and protein is separated not based on size but based on the specific charge which each protein bears. Since two protein which has a different array is not in agreement with both size and a charge, the result of 2D separation will occupy a spot with each characteristic protein on square gel. A chemistry article or the probe of an antibody analyzes a spot, or the relative amount of a certain specific protein in a sample and proteinic identity become clear by micro sequencing of consecutive protein.

[0032]

The above-mentioned trial can be carried out to the sample derived from an organization extract (homogenate or solubilization organization) which originates in a variety of patients' cell, body fluid and/or organization biopsy, and autopsy specimen. Blood, urine, saliva, other body secrete, or those induction objects are contained in body fluid useful to this invention. Blood may include a leucocyte, plasma, a blood serum, or the induction object of blood.

In vivo Antibody activity The antibody to BSG can be used for the patient who has the disease of an udder also by *in vivo*. It may be injected especially with the antibody to BSG for the object of a diagnosis and/or a therapy to a patient with the misgiving which has the disease of an udder. For example, the activity by radioimmunosintigraphy imaging of the neoplasm to which the antibody-chelating agent which carried out the indicator by the indium 111 discovers a carcinoembryonic antigen is described (Sumerdon et al., Nucl.Med.Biol.1990, 17:245-254). Especially an antibody-chelating agent such has been used for detecting the neoplasm of a patient with the misgiving which has the colorectal cancer of recurrence nature (Griffin et al., J.Clin.Onc.1991, 9:631-640). The antibody to which paramagnetic ion was attached as an indicator used for magnetic resonance imaging (MRI) has also been described (Lauffer, R.B., Magnetic Resonance in Medicine, 1991, 22:339-342). The antibody turned to BSG can also be used in the same way. It may be injected with the labelled antibody to BSG to a patient with the misgiving which is the object of a diagnosis of a patient or the staging of symptoms, and has the disease of an udder like a breast cancer. The indicator used is chosen according to the modality of the imaging used. For example, the indium 111, technetium-99m, or radioactive labeling like iodine-131 can be used for a 2-dimensional scan or a single photon emission computed tomography (SPECT). A positive electron radiolabel like a fluorine -19 can be used for positron emission tomography. A gadolinium (III) or paramagnetic ion like manganese (II) can be used for magnetic resonance imaging. It becomes possible to determine the breadth of a disease as the interior of an udder, or the exterior of an udder on orientating an indicator. It also becomes possible to judge the existence of the cancer in an udder with the amount of the indicator in an udder.

[0033]

For the patient diagnosed as a breast cancer, the profit on a therapy of injecting with the antibody to BSG may be brought about. An antibody may demonstrate the curative effect independently. In other ways, since an antibody reinforces the curative effect, it is combined with a drug, a toxin, or cytotoxic medicine like radionuclide

by it, a drug-monoclonal antibody — for example — Garnett and Baldwin, Cancer Research 1986, and 46 : 2407-2412 It has been described by this technical field. A toxin is combined with a monoclonal antibody and it is also used for the therapy of various cancer types. Pastan et al., Cell 1986, 47 : 641-648 It is described. About the monoclonal antibody which carried out the indicator by the yttrium 90, carrying out the delivery of the maximum dosage to a neoplasm is described, restricting the toxicity to normal tissue (Goodwin and Meares, Cancer Supplement 1997, 80:2675-2680). Although not limited, other cytotoxic radionuclide containing the copper 67, iodine-131, and a rhenium -186 can be used for the indicator of an antibody to BSG.

[0034]

Each of polyclonals and monoclonal antibodies, and antibodies manufactured by the technique of molecular biology is contained in the antibody which can be used for the approach of Above in vivo. Reference is made as an antibody fragment and SELEX, and it is well known by this contractor, in vitro APUTAMA and a single-stranded oligonucleotide which are derived from the protocol of evolution can also be used.

[0035]

[Example]

This invention is often explained in detail by the following examples. The following examples are offered only in order to explain this invention concretely in relation to a specific mode. Although these typical examples explain the specific side face of this invention, they show a restrictive thing or do not restrict the range of indicated invention.

Example 1

diaDexus Cancer for data mining which LLC, Santa Clara, and CA developed Leads Automatic Search Package (CLASP) is used and it is Incyte. BSG was identified by analyzing systematically the data of a LIFESEQ database more nearly available than Pharmaceuticals, Palo Alto, and CA.

[0036]

CLASP carries out the following processes : the organ discovered by altitude based on the ABAN (it compared with all other organs) dance level of the response EST in a target organ — choose a specific gene.

[0037]

Analyze the manifestation level in the organization library relevant to normal, neoplasm tissue, a disease organization and a neoplasm, or a disease about each of the organ specific gene discovered by altitude.

[0038]

Choose the candidate gene which shows that Component EST was chiefly found out more frequently than **** by the neoplasm library.

It becomes possible to identify the organ and cancer unique gene which are discovered by altitude useful to a diagnosis of a breast cancer by CLASP.

[0039]

[A table 1]

表1 : BSG配列

SEQ	ID NO :	LS クローン ID	LSA 遺伝子 ID
1		2 7 4 0 2 3 8 (Mam 0 0 2)	2 4 2 1 5 1
2		1 7 3 0 8 8 6 (Mam 0 0 1)	2 3 8 4 6 9
3		y 1 5 5 b 0 3 (Mam 0 0 5)	3 4 8 8 4 5
4		2 6 1 3 0 6 4 (Mam 0 0 4)	2 7 0 5 2
5		8 9 4 1 8 4	2 2 1 0 8 6
6		2 2 9 9 4 5 4	2 7 6 8 1
7		2 2 5 8 2 5 4	2 4 8 1 7 6
8		7 8 9 7 6 7	1 5 6 5 8 0
9		1 2 1 3 9 0 3	2 1 9 7 3 7

[0040]

The following examples were carried out using the standard technique which is well known to this contractor and serves as a conventional method, when the case where it was explained in detail was removed. The technique of

the steady molecular biology in the following examples is Sambrook et al. and MOLECULAR CLONING. : A LABORATORY MANUAL, 2nd.Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, and N.Y. (1989) It can carry out as given in a standard experiment manual [like].

Example 2: Comparison quantum of gene expression The real-time quantum PCR using a fluorescence Taqman probe is a quantitative detection system using 5'-3' nuclease activity of TaqDNA polymerase. By this approach, the internal fluorescence oligonucleotide probe (Taqman) by which the indicator was carried out with the reporter coloring matter of 5' and downstream 3' quenching coloring matter is used. Between PCR, it is Taq. A reporter is emitted by 5'-3' nuclease activity of DNA polymerase, and, subsequently it is Model. 7700 Sequence Detection The laser detector of System (PE Applied Biosystems, a FOSUTA city, CA, United States) can detect the fluorescence.

[0041]

Endogenous contrast was amplified, the amount of the sample RNA added to a reaction was standardized, and it was used for normalizing the effectiveness of reverse transcriptase (RT). It is either cyclo FIRIN, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) or 18S ribosomal RNA (rRNA) that was used as this endogenous contrast. In order to compute the relative amount between [all / that was examined] samples, the target RNA level of one sample was used as a reference value (calibrator) of a comparison result. The relative amount to the "calibrator" can be obtained with a comparison method (User Bulletin #2:ABI PRISM 7700 Sequence Detection System), using a standard curve. Mam001 (SEQ ID NO:2) which is an unique marker (BSM). In order to evaluate organization distribution of the normal tissue of Mam002 (SEQ ID NO:1), Mam004 (SEQ ID NO:4), and Mam005 (SEQ ID NO:3) and a cancer organization, and level All RNA was extracted from normal (matched) adjoining organizations (NAT), such as cancer and a pair, and the cancer which is not a pair etc. (unmatched) and normal tissue. Subsequently, the first cDNA chain was manufactured using reverse transcriptase, the specific primer and the Taqman probe were used for each of Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam002 (SEQ ID NO:1), Mam004 (SEQ ID NO:4), and Mam005 (SEQ ID NO:3), and polymerase chain reaction was carried out. This result is ABI. PRISM 7700 Sequence It is obtained using Detector. The following figures are the relative manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam002 (SEQ ID NO:1), Mam004 (SEQ ID NO:4), and Mam005 (SEQ ID NO:3) in comparison with each calibrator.

SEQ ID NO:2; clone ID:1730886; — measurement of gene ID:238469 (Mam001) The figure shown in a table 2 is the relative manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2) in 12 sorts of normal tissues in comparison with a testis (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0042]

[A table 2]

表2：プールしたサンプルにおけるMam001 (SEQ ID NO:2) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0
心臓	0
腎臓	0
肝臓	0
肺	0
乳房	6
前立腺	0
筋肉	0
小腸	0
精巣	1
胸腺	0
子宮	0

[0043]

In the pool of an udder with the normal mRNA manifestation of Mam001 (SEQ ID NO:2), and a testis, although the relative manifestation level of a table 2 is detected, it shows not being detected to ten sorts of other analyzed normal tissue pools. The above-mentioned result has the very specific mRNA manifestation of Mam001

(SEQ ID NO:2) in an udder organization, and being found out by the testis is shown. The manifestation in an organization peculiar to a male is unrelated to detecting the cancer of an organization peculiar to a woman. [0044]

The organization which shows in a table 2 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 3 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 2 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 3.

[0045]

The figure shown in a table 3 is the relative manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2) in comparison with a testis (calibrator) in samples, such as 24 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization (NAT) sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set.

[0046]

[A table 3]

表3：個別サンプルにおけるMam001 (SEQ ID NO:2) の相対発現レベル

サンプルID	組織	癌	対等の正常
Mam 47XP	乳腺	0	0
Mam A06X	乳腺	2.3	1
Mam B011X	乳腺	0	5
Mam 603X/C034	乳腺	0	2.10
Mam 162X	乳腺	1.96	0.15
Mam 42DN	乳腺	0.38	1.27
Mam S079	乳腺	0.34	0.36
Mam S123	乳腺	0.03	0.87
Mam S516	乳腺	0.43	0.53
Mam S699	乳腺	0.40	0.66
Mam S997	乳腺	0.41	0.51
Sto AC44	胃	0	0
TST 39X	精巣	0	0
Cln SG45	結腸	0	0
Cln TX01	結腸	0	0
Cvx NK23	頸部	0	0
Cvx NK24	頸部	0	0
Endo 3AX	子宮内膜	0	0
Endo 4XA	子宮内膜	0	0
Endo 5XA	子宮内膜	0	0
Kid 11XD	腎臓	0	0
Kid 5XD	腎臓	0	0
Lng C20X	肺	0	0
Lng SQ56	肺	0	0

[0047]

It is only an udder organization that a manifestation is seen in 48 samples representing eight sorts of different organizations of a table 3. The above-mentioned result confirms the result of the tissue specificity acquired about the normal sample shown in a table 2. A table 2 and a table 3 are doubled with 16 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 60 sorts. mRNA of Mam001 (SEQ ID NO:2) was not detected with 36 samples representing 14 sorts except an udder and a testis of different tissue forms (tables 2 and 3). It is only other one tissue form (testis) that Mam001 (SEQ ID NO:2) is detected except an udder organization, and it is only the organization sample by which it was also pooled (table 2), and is not detected with testis cancer samples, such as a pair, (table 3).

[0048]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 3. It is two (Mam A06X and Mam 162X) that it is discovered on

higher level compared with the normal adjoining organization where Mam001 (SEQ ID NO:2) corresponds among the breast cancer organization samples of 11. The manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2) in a breast cancer of low one is samples (Mam B011X, Mam 603 X/CO34, Mam 42DN, and Mam S123), such as four pairs, as compared with a normal adjoining organization. It is sample sets (Mam 47XP), such as one pair, that a manifestation was not detected. It is samples, such as other four pairs, that the manifestation of equivalent level or approximation level was detected (Mam S079, Mam S516, Mam S699, and Mam S997). However, an increment of the weight of cancer may also increase the total amount of a manifestation to the whole in the above-mentioned example.

[0049]

The tissue specificity, an increment, or an equivalent manifestation of the high level seen by six of 11 individuals has proved that it becomes a diagnostic marker for Mam001 (SEQ ID NO:2) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA.

SEQ ID NO:1; clone ID:2740238; — measurement of gene ID:242151 (Mam002) The figure shown in a table 4 is the relative manifestation level of Mam002 (SEQ ID NO:1) in 12 sorts of normal tissues in comparison with a thymus gland (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0050]

[A table 4]

表4：プールしたサンプルにおけるMam002 (SEQ ID NO:1) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0. 0 3
心臓	0. 0 1
腎臓	0
肝臓	0
肺	0. 0 6
乳房	2 8 9. 0 1
筋肉	0
前立腺	0. 3 1
小腸	0
精巣	0. 0 8
胸腺	1. 0 0
子宮	0

[0051]

In the pool of an udder with the normal mRNA manifestation of Mam002 (SEQ ID NO:1), although the relative manifestation level of a table 2 is detected with a high level, it shows that it is detected on very low level to 11 sorts of other analyzed normal tissue pools. In the above-mentioned result, the mRNA manifestation of Mam002 (SEQ ID NO:2) shows an udder organization a very specific thing.

[0052]

The organization which shows in a table 4 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 5 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 4 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 5.

[0053]

The figure shown in a table 5 is the relative manifestation level of Mam002 (SEQ ID NO:1) in comparison with a thymus gland (calibrator) in samples, such as 27 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization (NAT) sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set. Furthermore, an ovarian cancer and one normal (noncancerous) ovary samples, such as an udder sample, one non-pairs, etc., such as two non-pairs of the normal tissue origin, were also examined.

[0054]

[A table 5]

表5：個別サンプルにおけるMam002 (SEQ ID NO: 1) の相対発現レベル

サンプルID	組織	対	対等の正常
Mam 12X	乳腺	7. 2	69
Mam 42DN	乳腺	1051	2075
Mam 59X	乳腺	7. 0	15. 5
Mam A06X	乳腺	1655	1781
Mam B011X	乳腺	32. 1	2311
Mam S127	乳腺	1. 73	0
Mam S516	乳腺	9. 72	69. 95
Mam S699	乳腺	83. 46	75. 65
Mam S854	乳腺	133. 23	836. 56
Mam S967	乳腺	59. 77	188. 28
Mam S997	乳腺	94. 14	73. 64
Mam 162X	乳腺	674. 0	31. 1
Mam C012	乳腺	N/A	N/A 11379. 3
Mam C034	乳腺	N/A	N/A 3502. 6
Mam S079	乳腺	11772. 5	903. 5
Mam S123	乳腺	3. 4	170. 5
Ovr 103X	卵巢	0	0
Ovr 1118	卵巢	0. 13	N/A
Ovr 35GA	卵巢	N/A	N/A 0. 13
Utr 23XU	子宮	5. 6	0
Utr 135XO	子宮	0	0
Cvx NK24	頸部	0. 9	1. 4
End 4XA	子宮内膜	32. 2	0
Cln AS43	結腸	2. 3	0
Cln AS45	結腸	0	0
Cln RC01	結腸	0. 2	0
Lng AC90	肺	0	2. 0
Lng LC109	肺	0	0. 6
Lng SC32	肺	0. 8	0
Sto AC93	胃	0	0
Tst 39X	精巢	1. 97	0

[0055]

It is an udder organization that the highest manifestation is seen in 58 samples representing nine sorts of different organizations of a table 5. It is only one sample (End 4XA) that the manifestation which is equal to a large majority of udder samples examined in the non-dairy fringe organization which shows a manifestation was shown. This sample is endometrium tissue and this is an organization peculiar to a woman. The above-mentioned result confirms the result of the tissue specificity acquired about the normal sample shown in a table 4. A table 4 and a table 5 are doubled with 17 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 70 sorts. mRNA of Mam002 (SEQ ID NO:1) was not detected with 22 samples representing 11 sorts except an udder of different tissue forms (tables 4 and 5).

[0056]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 5. It is three (sample: Mam S127, Mam 162X, and Mam S079) that it is discovered on higher level compared with the normal adjoining organization where Mam002 (SEQ ID NO:1) corresponds among breast cancer organizations, such as a pair of 13. The manifestation level of Mam002 (SEQ ID NO:1) in a breast cancer of low one is eight persons' sample (Mam 12X, Mam 42DN, Mam 59X, Mam B011X, Mam S516, Mam S854, Mam S967, and Mam S123) as compared with a normal adjoining organization. It is samples (sample: Mam A06X, Mam S699, and Mam S997), such as other three pairs, that the manifestation of equivalent level or approximation level was detected.

[0057]

The tissue specificity of this high level has proved that it becomes a diagnostic marker for Mam002 (SEQ ID NO:1) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA. An udder organization is the only significant source where this gene expression was detected until now. Eight of samples, such as a pair of 13, have a lower manifestation in cancer from a normal adjoining organization. Therefore, this gene expression reduction may

serve as a diagnosis of the existence of cancer.

SEQ ID NO:4; clone ID:2613064; — measurement of gene ID:27052 (Mam004) The figure shown in a table 6 is the relative manifestation level of Mam004 (SEQ ID NO:4) in 12 sorts of normal tissues in comparison with an udder (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0058]

[A table 6]

表 6 : プールしたサンプルにおけるMam004 (SEQ ID NO : 4) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0. 059
心臓	0. 131
腎臓	0. 018
肝臓	0
肺	0. 478
乳房	1. 000
前立腺	0. 459
筋肉	0. 003
小腸	0. 048
精巣	0. 130
胸腺	0. 030
子宮	0. 071

[0059]

The relative manifestation level of a table 6 shows that it is detected to the pool of other organizations containing the udder with a normal mRNA manifestation, lungs and a prostate gland, the testis, and the heart of Mam004 (SEQ ID NO:4). Although the above-mentioned result is more highly discovered in a normal udder organization, the mRNA manifestation of Mam004 (SEQ ID NO:4) shows that there is no unique target to a mammary gland.

[0060]

The organization which shows in a table 6 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 7 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 6 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 3.

[0061]

The figure shown in a table 7 is the relative manifestation level of Mam004 (SEQ ID NO:4) in comparison with an udder (calibrator) in samples, such as 23 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization (NAT) sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set.

[0062]

[A table 7]

表7：個別サンプルにおけるMam004 (SEQ ID NO:4) の相対発現レベル

サンプルID	組織	癌	対等の正常
Mam 12B	乳腺	0	0
Mam 12X	乳腺	13.454	0
Mam 603X	乳腺	30.484	0
Mam 59X	乳腺	1.306	0
Mam 162X	乳腺	0.71	0.04
Mam 42DN	乳腺	0.25	2.17
Mam S079	乳腺	42.18	0.47
Mam S123	乳腺	0.01	0
Mam S516	乳腺	1.17	0.41
Mam S699	乳腺	0.11	0.55
Mam S997	乳腺	10.43	1.29
Sto AC44	胃	0.61	0
Cln SG45	結腸	0.04	0
Cln TX01	結腸	0	0
Cvx NK23	頸部	0	0
Cvx NK24	頸部	0	0
Endo 3AX	子宮内膜	0	0
Endo 4XA	子宮内膜	0	0
Endo 5XA	子宮内膜	0	2.73
Kid 11XD	腎臓	0	0
Kid 5XD	腎臓	0	2.63
Lng C20X	肺	0	0
Lng SQ56	肺	10.37	0

[0063]

In 46 samples representing seven sorts of different organizations of a table 7, an udder organization, especially cancer have the highest manifestation. It is one of one of the four lung samples (sample 23), one of the four kidney samples (sample 21), and the six endometrium samples (sample 19) that the manifestation which is equal to what is seen by the udder sample is seen. A table 6 and a table 7 are doubled with 16 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 58 sorts. mRNA of Mam004 (SEQ ID NO:4) was not detected with 20 samples representing seven sorts except an udder of different tissue forms (tables 6 and 7).

[0064]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 7. It is eight (Mam 12X, Mam 603X, Mam 59X, Mam 162X, Mam S079, Mam S123, Mam S516, and Mam S997) that it is discovered on higher level compared with the normal adjoining organization where Mam004 (SEQ ID NO:4) corresponds among the breast cancer organizations of 11. The manifestation level of Mam004 (SEQ ID NO:4) in a breast cancer of low one is samples (Mam 42DN and Mam S699), such as two pairs, as compared with a normal adjoining organization. It is sample sets (Mam 12B), such as one pair, that a manifestation was not detected.

[0065]

That the manifestation is going up with cancer samples, such as a large majority of pairs, as compared with a normal adjoining organization has proved that it becomes a diagnostic marker for Mam004 (SEQ ID NO:4) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA.

SEQ ID NO:3; clone ID:y 155b03; measurement of gene ID:348845 (Mam005) The figure shown in a table 8 is the relative manifestation level of Mam005 (SEQ ID NO:3) in 12 sorts of normal tissues in comparison with a testis (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0066]

[A table 8]

表8：プールしたサンプルにおけるMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0
心臓	0. 0002
腎臓	0. 0001
肝臓	0
肺	0
乳房	5. 4076
筋肉	0
前立腺	0
小腸	0
精巣	1
胸腺	0
子宮	0

[0067]

In the pool of an udder with the normal mRNA manifestation of Mam005 (SEQ ID NO:3), and a testis, although the relative manifestation level of a table 2 is detected, it shows not being detected on significant level to ten sorts of other analyzed normal tissue pools. The above-mentioned result has the very specific mRNA manifestation of Mam005 (SEQ ID NO:3) in an udder organization, and being found out by the testis is shown. The manifestation in an organization peculiar to a male is unrelated to detecting the cancer of an organization peculiar to a woman.

[0068]

The organization which shows in a table 8 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 9 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 8 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 9.

[0069]

The figure shown in a table 9 is the relative manifestation level of Mam005 (SEQ ID NO:3) in comparison with a testis (calibrator) in samples, such as 46 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set. Furthermore, an ovarian cancer and one normal (noncancerous) ovary samples, such as an udder sample, one non-pairs, etc., such as two non-pairs of the normal tissue origin, were also examined.

[0070]

[A table 9]

表9：個別サンプルにおけるMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現レベル

サンプルID	組織	絶	対等の正常	
Mam 12X	乳腺	0. 33	0. 71	
Mam 42DN	乳腺	0. 22	0. 63	
Mam 59X	乳腺	0. 03	0. 23	
Mam A06X	乳腺	70. 77	0. 56	
Mam B011X	乳腺	0. 03	1. 52	
Mam 162X	乳腺	0. 43	0. 09	
Mam C012	乳腺	N/A	N/A	1. 6
Mam C034	乳腺	N/A	N/A	2. 9
Mam S079	乳腺	0. 22	0. 13	
Mam S123	乳腺	0. 01	0. 23	
Mam S127	乳腺	0	0. 28	
Mam S516	乳腺	0. 15	0. 05	
Mam S699	乳腺	0. 21	0. 42	
Mam S854	乳腺	1. 12	0. 54	
Mam S967	乳腺	30. 61	0. 54	
Mam S997	乳腺	0. 40	0. 22	
Mam 14DN	乳腺	0. 07	0	
Mam 699F	乳腺	0. 01	0. 09	
Mam S621	乳腺	1. 82	0	
Mam S918	乳腺	6. 89	1. 06	
Cin CM67	結腸	0	0	
Cin DC19	結腸	0	0	
Cin AS43	結腸	0	0	
Cin AS45	結腸	0	0	
Cin RC01	結腸	0. 0012	0. 0003	
Lng AC90	肺	0	0	
Lng LC109	肺	0	0	
Lng SQ32	肺	0	0	
Lng SQ43	肺	0	0	
Ovr 103X	卵巣	0	0	
Ovr 1118	卵巣	0	N/A	
Ovr A084	卵巣	0	0	
Ovr G021	卵巣	0	0	
Ovr 35GA	卵巣	N/A	N/A	0
Cvx NK23	頸部	0	0	
Cvx NK24	頸部	0	0	
Endo 3AX	子宮内膜	0	0	
End 4XA	子宮内膜	0	0	
Sto 758S	胃	0	0	
Sto AC44	胃	0	0	
Sto AC93	胃	0	0	
Tst 39X	精巢	0. 01	0. 01	
Utr 85XU	子宮	0	0	
Utr 135XO	子宮	0	0	
Utr 23XU	子宮	0	0	
Kid 124D	腎臓	0	0	
Lvr 15XA	肝臓	0	0	
Pan CO44	肺臓	0	0	
Skn 448S	皮膚	0	0	
SmInt 21XA	小腸	0	0	

[0071]

It is only an udder organization that a significant manifestation is seen in 96 samples representing 14 sorts of different organizations of a table 9. The above-mentioned result confirms the result of the tissue specificity acquired about the normal sample shown in a table 8. A table 8 and a table 9 are doubled with 18 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 108 sorts. With 67 samples representing 16 sorts except an udder and a testis of different tissue forms, mRNA of Mam005 (SEQ ID NO:3) was not detected at all, or had only detection of very low level (tables 8 and 9).

[0072]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 9. It is 10 sets (Mam A06X, Mam 162X, Mam S079, Mam S516, Mam S854, Mam S967, Mam S997, Mam 14DN, Mam S621, and Mam S918) that it is discovered on higher level compared with the normal adjoining organization where Mam005 (SEQ ID NO:3) corresponds among 18 sets of cancers and a normal sample. The manifestation level of Mam005 (SEQ ID NO:3) in a breast cancer of low one is eight cancers and a normal adjoining organization sample (Mam 12X, Mam 42DN, Mam 59X, Mam B011X, Mam S123, Mam S127, Mam S699, and Mam S699F) as compared with a normal adjoining organization. It is samples, such as two pairs, that a manifestation was not detected.

[0073]

The tissue specificity of a high level and the superfluous manifestation which were seen by ten among the equal cancer of 18 and a normal adjoining organization sample have proved that it becomes a diagnostic marker for Mam005 (SEQ ID NO:3) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA.

[Layout Table]

SEQUENCE LISTING

<110> Sun, Yongming
Recipon, Herve
Cafferkey, Robert
DIADEXUS LLC

<120> A NOVEL METHOD OF DIAGNOSING, MONITORING, STAGING ,
IMAGING AND TREATING BREAST CANCER

<130> DEX-0040

<140>
<141>

<150> 60/095,232
<151> 1998-08-04

<160> 9

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1
<211> 544
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (505)..(506)

<220>
<221> unsure
<222> (510)

<220>
<221> unsure
<222> (521)

<220>
<221> unsure
<222> (527)..(528)

<220>
<221> unsure
<222> (531)

<220>

<210> 3
<211> 649
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 3
gcaatgttta atatctcata agctatacac acctcgaagc catcaatgac aaccctttct 60
tgctgaatag aacagtgtt gatgtcatga agacaatttt atctcctttt gccttcata 120
atttgtacca ggttatataa tagtataaca ctgccaagga gctggattatc tcataatcat 180
cctgttaattc cagtgttgc cacgtgggtt tgaaataat gaataaagaa tgagaaaacc 240
agaagctctg atacataatc ataatgataa ttatcataat gcacaactac ggggtgggt 300
gaactagaat ctatatttc tgaaactggc tcctctagga tctactaatg atttaaatct 360
aaaagatgaa gtttagtaaag catcagaaaaaaaaggtaaa czaattgctc ctgtggagat 420
gattggcattc acatgggtt tttagctgtat acacccaaaca cttgagctca ctgcaacagt 480
accagattttt caccgtatg cttctttca ctctgggagt cttccagagg tcttgcactc 540
gggagagcat gctcaggttt ccccaagctct aaaaaatcac ccagaatgcc aaagacttca 600
acacaagggtt aaataaggaa gatctcagaa ttgtcacccctc aaaaaggcc 649

<210> 4
<211> 388
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (378)

<220>
<221> unsure
<222> (385)

<400> 4
agctgctcaa tacggAACAT attctcagtc ctccctgtgt ctacaaAGCC tggattttct 60
tgtctatgga cagaacgtct ggtttaatct acagggAACCC ataacttcct gaagctttat 120
gcttaacagt gacaacgtga gtcagtggaa ttttattgtt tttcagtcgg tagagtattt 180
gctaaacagaa acctttccat tgccatactg agaaaactggc agcaggcagt gtgcctacag 240
gtctacaaag aaacttcaga tcataatctt gagggaaaga agctgaagtg ctacataaga 300
tgcttgcgtc tcataactct cagaagctgc agattctgtt taaatcctt aaaaagagca 360
tccctgaat ccataaangt atatngcg 388

<210> 5
<211> 1227
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (327)

<220>
<221> unsure
<222> (352)

<220>
<221> unsure
<222> (369)

<220>
<221> unsure
<222> (850) .. (880)

<220>
<221> unsure
<222> (1220)

<400> 5
attttgtagt tcagcaaatac ctccaaatac acagcatgtt acaaggcact ggtggcacag 60
ggcacaacag gaaatgataat ttatggatca aattcattta acaaataatta ttgggcacct 120
gttatgtgag acactgtcct aggactgtg ggataacaac agcaaaacact tcacacaaca 180
gcctggccctt cctgtgtttt acaacagctc ctaaaagatag ctgatataa gacatttgag 240
ggacacagtt catgtagaat caaaaatatta gtatccaga ataaggattt ttttctgaa 300
aagcatacag agagggaaaca gcttaanaat aggtcaagac ctaaaaacag antataatca 360
cggaataanc tggataaccc agacagtccc cacagaattt ctttcaggc acagatttct 420
taaaaactcac ccccaaaatg tgccigtctg gttgtttgaa tcttgatataa ttaatgtcac 480
aggcgcgaagc cgctgaactt agttgagatg cagaaaaacaa acaaatacgaa tgacatatact 540
gagaaggcatt tatgtaaactc cggttaagtg gtgaggaggg gtgtgtgaag acagtgtgca 600
tgcattgtgtg tgcatttcata tataatgtgt a tacatatgaa tttcactgtt atttccagg 660
gtctatggac aatgtggcag taagagtcta tgatgttctg aaactttca cagtaaatcc 720
aaagattaca gaccttacaa ggtgttgc a ttctgttgc tttccatctg tcacattctca 780
ggttatttga ctgtgttcaa accttctttt cttttcatt gagtttcatt ttttaagtt 840
gttaaatgcn nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnn tgcattttt cacattatcc 900
tctcttcctc gcaacaagga tagtaagatg tagatgaatg caaaaataat aacaacaata 960
aggaaatata ttaaagcttt aaaatatgca catatgtagt tctaaagagc aataacggta 1020
gtatctattt cgaacatgca tttaggcaaaa aagaaatcaa aactgaaaatt ttctgttatt 1080
tttccctcttgc taagatgttc aatgctaac ttcatatctt ctttcctctt atgtggcact 1140
ttctcaaaaat atctatgaaa tactttttaga caaagattga gctggagaaa gagataaaaa 1200
tttccatcccc cccagacaaq gqagacat 1227

<210> 6
<211> 253
<212> DNA
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> unsure
<222> (181)

<220>
<221> unsure
<222> (201)

<220>
<221> unsure
<222> (205)

<220>
<221> unsure
<222> (238)

<220>
<221> unsure
<222> (241) .. (242)

<220>
<221> unsure
<222> (250)

<400> 6
gaacagcctc acttgtgttg ctgtcagtgc cagtagggca ggcaggaatg cagcagagag 60
gactcgccat cgtggccttg gctgtctgtg cggccctaca tgcctcagaa gccatacttc 120
ccattgcctc cagctgttgc acggaggttt cacatcatat ttccagaagg ctccctggaaa 180
nagtgaatat gtgtcgcatc naganagctg atggggatgg tgacttgct gctgtcancc 240
nncatgtcan gcg 253

<210> 7
<211> 943
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (128)

<220>
<221> unsure
<222> (130)

<220>
<221> unsure
<222> (925)

<400> 7
gggggcctgg ccccgccccc tgtgaggacc ccgcgggtgc tggggtaaga ggctctagac 60
ccttcacctg tcagtcacct gaggaggct gaggccaagc cccatccctc agaatcaagg 120

cttgcaancn cccctcacct gcccagtctc tgtccacacc cctcgggctg aagacggccc 180
tgaccaggcc ctgggctca gogaccaccc ctcccccctcc tgcctggacc cagggagcag 240
gtgcgggggg ctccgagccc ctggtgactg tcaccgtgca gtgcgcctc acagtggccc 300
tgagggcacg aagaggagcc gacctgtcca gcctgcgggc actgtctggc caageccctcc 360
ctcacczagc ccagttggg caactcaggt gggccagaaa gcccccgstg gctgcggtgg 420
agctgggcac cgccccgact gaggcagctg ctggaagagg gggtggcaga ggtcaactgcc 480
ctccctgcag gccccaccca ggaggccccc tctgaggaat ctctttgcag ttacctagcc 540
ccaggtgagg acgggactg ggtcccccate cccgaggagg agtcgctgca gagggcctgg 600
caggacgcag ctgcctgccc cagggggctg cagtcaggt gcaggggagc cgggggtcgg 660
ccggtcctct accaggtggt ggcggcagcac agtactccg cccagggggcc agaggacctg 720
ggcttcgcac agggggacac ggtggacgtc ctgtgtgaag tggaccaggc atggctggag 780
ggccactgtg acggccgcat cggcatcttc cccaaagtgt tcgtgttccc cgccggccct 840
cgatgtca gggcccccgg ccgcctgcgg cgtatcccagc agggagatca gccttaatga 900
tgctgtgtcc atgatgtttt taatnaaaa aaccccccact gca 943

<210> 8

<211> 249

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> unsure

<222> (48)

<220>

<221> unsure

<222> (110)

<220>

<221> unsure

<222> (192)

<220>

<221> unsure

<222> (205)

<220>

<221> unsure

<222> (218)

<400> 8

atcacattaa gtcattgcta attttataaa caaaaacaat ggttttantt tgcatctccc 60
tgatggat tgctgtagaa catatttgg aagtttgtt tgcctttggg gttattttca 120
tgaatagatt gtgtgccccat ttctcttgg ggtattcagt tttttattac tgatgtgagc 180
atgtgtatgg gngatttattt gatgnttatac agttttgntt agtagactgg caatattttag 240
tcttgctgt 249

<210> 9

<211> 690
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
gacgcccagt gacctgccga ggtcgccagc acagagctct ggagatgaaq accctgttcc 60
tgggtgtcac gctcgccctg gccgtgtccc tgccttcac cctggaggag gaggatata 120
cagggacctg gtacgtgaag gccatggtgg tgcataaggc ctttccggag gacaggagc 180
ccagggaaatgt gtcccccaatg aaggtgacag ccctgggggg tgggaatgtt gaaatccatgt 240
tcacccatcat gggggaggat cgggtgcattcc agaagaaaaat cctgatgcgg aagacggagg 300
agcctggcaa atacagcgcc tatggggca ggaagctcat gtacctgcag gagctgccc 360
ggagggacca ctacatctt tactgcaaa accagcacca tggggccctg ctccacatgg 420
gaaatgtt gggtagaat tctgataccca accggggaggc cctggaaagaa tttaaaaaat 480
tggtgccagcg caagggactc tcggaggagg acatttcac gccccctgcag acggaaatgt 540
gcgtccccca acactaggca gccccccgggt ctgcacccctc agagccccacc ctaccaccc 600
acacagagcc cggaccaccc tccagccatg accctccctt gctcccccc 660
acctgactcc aaataaagtcc ttctcccc 690

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

EXAMPLE

[Example]

This invention is often explained in detail by the following examples. The following examples are offered only in order to explain this invention concretely in relation to a specific mode. Although these typical examples explain the specific side face of this invention, they show a restrictive thing or do not restrict the range of indicated invention.

Example 1

diaDexus Cancer for data mining which LLC, Santa Clara, and CA developed Leads Automatic Search Package (CLASP) is used and it is Incyte. BSG was identified by analyzing systematically the data of a LIFESEQ database more nearly available than Pharmaceuticals, Palo Alto, and CA.

[0036]

CLASP carries out the following processes : the organ discovered by altitude based on the ABAN (it compared with all other organs) dance level of the response EST in a target organ -- choose a specific gene.

[0037]

Analyze the manifestation level in the organization library relevant to normal, neoplasm tissue, a disease organization and a neoplasm, or a disease about each of the organ specific gene discovered by altitude.

[0038]

Choose the candidate gene which shows that Component EST was chiefly found out more frequently than **** by the neoplasm library.

It becomes possible to identify the organ and cancer unique gene which are discovered by altitude useful to a diagnosis of a breast cancer by CLASP.

[0039]

[A table 1]

表1 : BSG配列

SEQ	ID NO:	LS クローン ID	LSA 遺伝子 ID
1		2740238 (Mam002)	242151
2		1730886 (Mam001)	238469
3		y155b03 (Mam005)	348845
4		2613064 (Mam004)	27052
5		894184	221086
6		2299454	27681
7		2258254	248176
8		789767	156580
9		1213903	219737

[0040]

The following examples were carried out using the standard technique which is well known to this contractor and serves as a conventional method, when the case where it was explained in detail was removed. The technique of the steady molecular biology in the following examples is Sambrook et al. and MOLECULAR CLONING. : A LABORATORY MANUAL, 2nd.Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, and N.Y. (1989) It

can carry out as given in a standard experiment manual [like].

Example 2: Comparison quantum of gene expression The real-time quantum PCR using a fluorescence Taqman probe is a quantitative detection system using 5'-3' nuclease activity of TaqDNA polymerase. By this approach, the internal fluorescence oligonucleotide probe (Taqman) by which the indicator was carried out with the reporter coloring matter of 5' and downstream 3' quenching coloring matter is used. Between PCR, it is Taq. A reporter is emitted by 5'-3' nuclease activity of DNA polymerase, and, subsequently it is Model. 7700 Sequence Detection The laser detector of System (PE Applied Biosystems, a FOSUTA city, CA, United States) can detect the fluorescence.

[0041]

Endogenous contrast was amplified, the amount of the sample RNA added to a reaction was standardized, and it was used for normalizing the effectiveness of reverse transcriptase (RT). It is either cyclo FIRIN, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) or 18S ribosomal RNA (rRNA) that was used as this endogenous contrast. In order to compute the relative amount between [all / that was examined] samples, the target RNA level of one sample was used as a reference value (calibrator) of a comparison result. The relative amount to the "calibrator" can be obtained with a comparison method (User Bulletin #2: ABI PRISM 7700 Sequence Detection System), using a standard curve. Mam001 (SEQ ID NO:2) which is an udder unique marker (BSM), In order to evaluate organization distribution of the normal tissue of Mam002 (SEQ ID NO:1), Mam004 (SEQ ID NO:4), and Mam005 (SEQ ID NO:3) and a cancer organization, and level All RNA was extracted from normal (matched) adjoining organizations (NAT), such as cancer and a pair, and the cancer which is not a pair etc. (unmatched) and normal tissue. Subsequently, the first cDNA chain was manufactured using reverse transcriptase, the specific primer and the Taqman probe were used for each of Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam002 (SEQ ID NO:1), Mam004 (SEQ ID NO:4), and Mam005 (SEQ ID NO:3), and polymerase chain reaction was carried out. This result is ABI. PRISM 7700 Sequence It is obtained using Detector. The following figures are the relative manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2), Mam002 (SEQ ID NO:1), Mam004 (SEQ ID NO:4), and Mam005 (SEQ ID NO:3) in comparison with each calibrator.

SEQ ID NO:2; clone ID:1730886; — measurement of gene ID:238469 (Mam001) The figure shown in a table 2 is the relative manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2) in 12 sorts of normal tissues in comparison with a testis (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0042]

[A table 2]

表2：プールしたサンプルにおけるMam001 (SEQ ID NO:2) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0
心臓	0
腎臓	0
肝臓	0
肺	0
乳房	6
前立腺	0
筋肉	0
小腸	0
精巣	1
胸腺	0
子宮	0

[0043]

In the pool of an udder with the normal mRNA manifestation of Mam001 (SEQ ID NO:2), and a testis, although the relative manifestation level of a table 2 is detected, it shows not being detected to ten sorts of other analyzed normal tissue pools. The above-mentioned result has the very specific mRNA manifestation of Mam001 (SEQ ID NO:2) in an udder organization, and being found out by the testis is shown. The manifestation in an organization peculiar to a male is unrelated to detecting the cancer of an organization peculiar to a woman.

[0044]

The organization which shows in a table 2 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 3 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 2 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 3.

[0045]

The figure shown in a table 3 is the relative manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2) in comparison with a testis (calibrator) in samples, such as 24 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization (NAT) sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set.

[0046]

[A table 3]

表3：個別サンプルにおけるMam001 (SEQ ID NO:2) の相対発現レベル

サンプルID	組織	癌	対等の正常
Mam 47XP	乳腺	0	0
Mam A06X	乳腺	2.3	1
Mam B011X	乳腺	0	5
Mam 603X/C034	乳腺	0	2.10
Mam 162X	乳腺	1.96	0.15
Mam 42DN	乳腺	0.38	1.27
Mam S079	乳腺	0.34	0.36
Mam S123	乳腺	0.03	0.87
Mam S516	乳腺	0.43	0.53
Mam S699	乳腺	0.40	0.66
Mam S997	乳腺	0.41	0.51
Sto AC44	胃	0	0
TST 39X	精巣	0	0
Cln SG45	結腸	0	0
Cln TX01	結腸	0	0
Cvx NK23	頸部	0	0
Cvx NK24	頸部	0	0
Endo 3AX	子宮内膜	0	0
Endo 4XA	子宮内膜	0	0
Endo 5XA	子宮内膜	0	0
Kid 11XD	腎臓	0	0
Kid 5XD	腎臓	0	0
Lng C20X	肺	0	0
Lng SQ56	肺	0	0

[0047]

It is only an udder organization that a manifestation is seen in 48 samples representing eight sorts of different organizations of a table 3. The above-mentioned result confirms the result of the tissue specificity acquired about the normal sample shown in a table 2. A table 2 and a table 3 are doubled with 16 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 60 sorts. mRNA of Mam001 (SEQ ID NO:2) was not detected with 36 samples representing 14 sorts except an udder and a testis of different tissue forms (tables 2 and 3). It is only other one tissue form (testis) that Mam001 (SEQ ID NO:2) is detected except an udder organization, and it is only the organization sample by which it was also pooled (table 2), and is not detected with testis cancer samples, such as a pair, (table 3).

[0048]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 3. It is two (Mam A06X and Mam 162X) that it is discovered on higher level compared with the normal adjoining organization where Mam001 (SEQ ID NO:2) corresponds among the breast cancer organization samples of 11. The manifestation level of Mam001 (SEQ ID NO:2) in a breast

cancer of low one is samples (Mam B011X, Mam 603 X/CO34, Mam 42DN, and Mam S123), such as four pairs, as compared with a normal adjoining organization. It is sample sets (Mam 47XP), such as one pair, that a manifestation was not detected. It is samples, such as other four pairs, that the manifestation of equivalent level or approximation level was detected (Mam S079, Mam S516, Mam S699, and Mam S997). However, an increment of the weight of cancer may also increase the total amount of a manifestation to the whole in the above-mentioned example.

[0049]

The tissue specificity, an increment, or an equivalent manifestation of the high level seen by six of 11 individuals has proved that it becomes a diagnostic marker for Mam001 (SEQ ID NO:2) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA.

SEQ ID NO:1; clone ID:2740238; — measurement of gene ID:242151 (Mam002) The figure shown in a table 4 is the relative manifestation level of Mam002 (SEQ ID NO:1) in 12 sorts of normal tissues in comparison with a thymus gland (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0050]

[A table 4]

表4：プールしたサンプルにおけるMam002 (SEQ ID NO:1) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0. 03
心臓	0. 01
腎臓	0
肝臓	0
肺	0. 06
乳房	289. 01
筋肉	0
前立腺	0. 31
小腸	0
精巣	0. 08
胸腺	1. 00
子宮	0

[0051]

In the pool of an udder with the normal mRNA manifestation of Mam002 (SEQ ID NO:1), although the relative manifestation level of a table 2 is detected with a high level, it shows that it is detected on very low level to 11 sorts of other analyzed normal tissue pools. In the above-mentioned result, the mRNA manifestation of Mam002 (SEQ ID NO:2) shows an udder organization a very specific thing.

[0052]

The organization which shows in a table 4 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 5 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 4 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 5.

[0053]

The figure shown in a table 5 is the relative manifestation level of Mam002 (SEQ ID NO:1) in comparison with a thymus gland (calibrator) in samples, such as 27 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization (NAT) sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set. Furthermore, an ovarian cancer and one normal (noncancerous) ovary samples, such as an udder sample, one non-pairs, etc., such as two non-pairs of the normal tissue origin, were also examined.

[0054]

[A table 5]

表5：個別サンプルにおけるMam002 (SEQ ID NO:1) の相対発現レベル

サンプルID	組織	発現	対等の正常
Mam 12X	乳腺	7. 2	6 9
Mam 42DN	乳腺	1 0 5 1	2 0 7 5
Mam 59X	乳腺	7. 0	1 5. 5
Mam A06X	乳腺	1 6 5 5	1 7 8 1
Mam B011X	乳腺	3 2. 1	2 3 1 1
Mam S127	乳腺	1. 7 3	0
Mam S516	乳腺	9. 7 2	6 9. 9 5
Mam S699	乳腺	8 3. 4 6	7 5. 6 5
Mam S854	乳腺	1 3 3. 2 3	8 3 6. 5 6
Mam S967	乳腺	5 9. 7 7	1 8 8. 2 8
Mam S997	乳腺	9 4. 1 4	7 3. 6 4
Mam 162X	乳腺	6 7 4. 0	3 1. 1
Mam C012	乳腺	N/A	N/A
Mam C034	乳腺	N/A	N/A
Mam S079	乳腺	1 1 7 7 2. 5	9 0 3. 5
Mam S123	乳腺	3. 4	1 7 0. 5
Ovr 103X	卵巣	0	0
Ovr 1118	卵巣	0. 1 3	N/A
Ovr 35GA	卵巣	N/A	N/A
Utr 23XU	子宮	5. 6	0
Utr 135XO	子宮	0	0
Cvx NK24	頸部	0. 9	1. 4
End 4XA	子宮内膜	3 2. 2	0
Cln AS43	結腸	2. 3	0
Cln AS45	結腸	0	0
Cln RC01	結腸	0. 2	0
Lng AC90	肺	0	2. 0
Lng LC109	肺	0	0. 6
Lng SC32	肺	0. 8	0
Sto AC93	胃	0	0
Tst 39X	精巣	1. 9 7	0

[0055]

It is an udder organization that the highest manifestation is seen in 58 samples representing nine sorts of different organizations of a table 5. It is only one sample (End 4XA) that the manifestation which is equal to a large majority of udder samples examined in the non-dairy fringe organization which shows a manifestation was shown. This sample is endometrium tissue and this is an organization peculiar to a woman. The above-mentioned result confirms the result of the tissue specificity acquired about the normal sample shown in a table 4. A table 4 and a table 5 are doubled with 17 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 70 sorts. mRNA of Mam002 (SEQ ID NO:1) was not detected with 22 samples representing 11 sorts except an udder of different tissue forms (tables 4 and 5).

[0056]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 5. It is three (sample: Mam S127, Mam 162X, and Mam S079) that it is discovered on higher level compared with the normal adjoining organization where Mam002 (SEQ ID NO:1) corresponds among breast cancer organizations, such as a pair of 13. The manifestation level of Mam002 (SEQ ID NO:1) in a breast cancer of low one is eight persons' sample (Mam 12X, Mam 42DN, Mam 59X, Mam B011X, Mam S516, Mam S854, Mam S967, and Mam S123) as compared with a normal adjoining organization. It is samples (sample: Mam A06X, Mam S699, and Mam S997), such as other three pairs, that the manifestation of equivalent level or approximation level was detected.

[0057]

The tissue specificity of this high level has proved that it becomes a diagnostic marker for Mam002 (SEQ ID NO:1) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA. An udder organization is the only significant source where this gene expression was detected until now. Eight of samples, such as a pair of 13, have a lower manifestation in cancer from a normal adjoining organization. Therefore, this gene expression reduction may serve as a diagnosis of the existence of cancer.

SEQ ID NO:4; clone ID:2613064; -- measurement of gene ID:27052 (Mam004) The figure shown in a table 6 is the relative manifestation level of Mam004 (SEQ ID NO:4) in 12 sorts of normal tissues in comparison with an udder (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0058]

[A table 6]

表6：プールしたサンプルにおけるMam004 (SEQ ID NO:4) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0. 059
心臓	0. 131
腎臓	0. 018
肝臓	0
肺	0. 478
乳房	1. 000
前立腺	0. 459
筋肉	0. 003
小腸	0. 048
精巣	0. 130
胸腺	0. 030
子宮	0. 071

[0059]

The relative manifestation level of a table 6 shows that it is detected to the pool of other organizations containing the udder with a normal mRNA manifestation, lungs and a prostate gland, the testis, and the heart of Mam004 (SEQ ID NO:4). Although the above-mentioned result is more highly discovered in a normal udder organization, the mRNA manifestation of Mam004 (SEQ ID NO:4) shows that there is no unique target to a mammary gland.

[0060]

The organization which shows in a table 6 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 7 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 6 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 3.

[0061]

The figure shown in a table 7 is the relative manifestation level of Mam004 (SEQ ID NO:4) in comparison with an udder (calibrator) in samples, such as 23 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization (NAT) sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set.

[0062]

[A table 7]

表7：個別サンプルにおけるMam004 (SEQ ID NO:4) の相対発現レベル

サンプルID	組織	癌	対等の正常
Mam 12B	乳腺	0	0
Mam 12X	乳腺	13.454	0
Mam 603X	乳腺	30.484	0
Mam 59X	乳腺	1.306	0
Mam 162X	乳腺	0.71	0.04
Mam 42DN	乳腺	0.25	2.17
Mam S079	乳腺	42.18	0.47
Mam S123	乳腺	0.01	0
Mam S516	乳腺	1.17	0.41
Mam S699	乳腺	0.11	0.55
Mam S997	乳腺	10.43	1.29
Sto AC44	胃	0.61	0
Cln SG45	結腸	0.04	0
Cln TX01	結腸	0	0
Cvx NK23	頸部	0	0
Cvx NK24	頸部	0	0
Endo 3AX	子宮内膜	0	0
Endo 4XA	子宮内膜	0	0
Endo 5XA	子宮内膜	0	2.73
Kid 11XD	腎臓	0	0
Kid 5XD	腎臓	0	2.63
Lng C20X	肺	0	0
Lng SQ56	肺	10.37	0

[0063]

In 46 samples representing seven sorts of different organizations of a table 7, an udder organization, especially cancer have the highest manifestation. It is one of one of the four lung samples (sample 23), one of the four kidney samples (sample 21), and the six endometrium samples (sample 19) that the manifestation which is equal to what is seen by the udder sample is seen. A table 6 and a table 7 are doubled with 16 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 58 sorts. mRNA of Mam004 (SEQ ID NO:4) was not detected with 20 samples representing seven sorts except an udder of different tissue forms (tables 6 and 7).

[0064]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 7. It is eight (Mam 12X, Mam 603X, Mam 59X, Mam 162X, Mam S079, Mam S123, Mam S516, and Mam S997) that it is discovered on higher level compared with the normal adjoining organization where Mam004 (SEQ ID NO:4) corresponds among the breast cancer organizations of 11. The manifestation level of Mam004 (SEQ ID NO:4) in a breast cancer of low one is samples (Mam 42DN and Mam S699), such as two pairs, as compared with a normal adjoining organization. It is sample sets (Mam 12B), such as one pair, that a manifestation was not detected.

[0065]

That the manifestation is going up with cancer samples, such as a large majority of pairs, as compared with a normal adjoining organization has proved that it becomes a diagnostic marker for Mam004 (SEQ ID NO:4) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA.

SEQ ID NO:3; clone ID:y 155b03; measurement of gene ID:348845 (Mam005) The figure shown in a table 8 is the relative manifestation level of Mam005 (SEQ ID NO:3) in 12 sorts of normal tissues in comparison with a testis (calibrator). These RNA samples pool and produce the sample of the specific organization origin of what came to hand from the commercial item, and various individuals.

[0066]

[A table 8]

表8：プールしたサンプルにおけるMam005 (SEQ ID NO:3) の相対発現
レベル

組織	正常
脳	0
心臓	0. 0002
腎臓	0. 0001
肝臓	0
肺	0
乳房	5. 4076
筋肉	0
前立腺	0
小腸	0
精巣	1
胸腺	0
子宮	0

[0067]

In the pool of an udder with the normal mRNA manifestation of Mam005 (SEQ ID NO:3), and a testis, although the relative manifestation level of a table 2 is detected, it shows not being detected on significant level to ten sorts of other analyzed normal tissue pools. The above-mentioned result has the very specific mRNA manifestation of Mam005 (SEQ ID NO:3) in an udder organization, and being found out by the testis is shown. The manifestation in an organization peculiar to a male is unrelated to detecting the cancer of an organization peculiar to a woman.

[0068]

The organization which shows in a table 8 is the sample pooled from various individuals. The organization which shows in a table 9 got from the individual, and was not pooled. Therefore, the numeric value about the mRNA manifestation level shown in a table 8 must have been compared a numeric value and directly it is shown in a table 9.

[0069]

The figure shown in a table 9 is the relative manifestation level of Mam005 (SEQ ID NO:3) in comparison with a testis (calibrator) in samples, such as 46 pairs of pairs. The cancer sample and the normal adjoining organization sample of the same organization of the specific organization originating in the same individual are contained in pairs, such as each set. Furthermore, an ovarian cancer and one normal (noncancerous) ovary samples, such as an udder sample, one non-pairs, etc., such as two non-pairs of the normal tissue origin, were also examined.

[0070]

[A table 9]

表9：個別サンプルにおけるMam005 (SEQ ID NO: 3) の相対発現レベル

サンプルID	組織	率	対等の正常	
Mam 12X	乳腺	0.33	0.71	
Mam 42DN	乳腺	0.22	0.63	
Mam 59X	乳腺	0.03	0.23	
Mam A06X	乳腺	70.77	0.56	
Mam B011X	乳腺	0.03	1.52	
Mam 162X	乳腺	0.43	0.09	
Mam C012	乳腺	N/A	N/A	1.6
Mam C034	乳腺	N/A	N/A	2.9
Mam S079	乳腺	0.22	0.13	
Mam S123	乳腺	0.01	0.23	
Mam S127	乳腺	0	0.28	
Mam S516	乳腺	0.15	0.05	
Mam S699	乳腺	0.21	0.42	
Mam S854	乳腺	1.12	0.54	
Mam S967	乳腺	30.61	0.54	
Mam S997	乳腺	0.40	0.22	
Mam 14DN	乳腺	0.07	0	
Mam 699F	乳腺	0.01	0.09	
Mam S621	乳腺	1.82	0	
Mam S918	乳腺	6.89	1.06	
Cln CM67	結腸	0	0	
Cln DC19	結腸	0	0	
Cln AS43	結腸	0	0	
Cln AS45	結腸	0	0	
Cln RC01	結腸	0.0012	0.0003	
Lng AC90	肺	0	0	
Lng LC109	肺	0	0	
Lng SQ32	肺	0	0	
Lng SQ43	肺	0	0	
Ovr 103X	卵巣	0	0	
Ovr 1118	卵巣	0	N/A	
Ovr A084	卵巣	0	0	
Ovr G021	卵巣	0	0	
Ovr 35GA	卵巣	N/A	N/A	0
Cvx NK23	頸部	0	0	
Cvx NK24	頸部	0	0	
Endo 3AX	子宮内膜	0	0	
End 4XA	子宮内膜	0	0	
Sto 758S	胃	0	0	
Sto AC44	胃	0	0	
Sto AC93	胃	0	0	
Tst 39X	精巢	0.01	0.01	
Utr 85XU	子宮	0	0	
Utr 135XO	子宮	0	0	
Utr 23XU	子宮	0	0	
Kid 124D	腎臓	0	0	
Lvr 15XA	肝臓	0	0	
Pan CO44	脾臓	0	0	
Skn 448S	皮膚	0	0	
SmInt 21XA	小腸	0	0	

[0071]

It is only an udder organization that a significant manifestation is seen in 96 samples representing 14 sorts of different organizations of a table 9. The above-mentioned result confirms the result of the tissue specificity acquired about the normal sample shown in a table 8. A table 8 and a table 9 are doubled with 18 sorts of human tissue molds, and express the sample of a total of 108 sorts. With 67 samples representing 16 sorts except an udder and a testis of different tissue forms, mRNA of Mam005 (SEQ ID NO:3) was not detected at all, or had only detection of very low level (tables 8 and 9).

[0072]

What compared the mRNA manifestation level of the breast cancer sample of the same individual origin and a normal adjoining organization is shown in a table 9. It is 10 sets (Mam A06X, Mam 162X, Mam S079, Mam S516, Mam S854, Mam S967, Mam S997, Mam 14DN, Mam S621, and Mam S918) that it is discovered on higher level compared with the normal adjoining organization where Mam005 (SEQ ID NO:3) corresponds among 18 sets of cancers and a normal sample. The manifestation level of Mam005 (SEQ ID NO:3) in a breast cancer of low one is eight cancers and a normal adjoining organization sample (Mam 12X, Mam 42DN, Mam 59X, Mam B011X, Mam S123, Mam S127, Mam S699, and Mam S699F) as compared with a normal adjoining organization. It is samples, such as two pairs, that a manifestation was not detected.

[0073]

The tissue specificity of a high level and the superfluous manifestation which were seen by ten among the equal cancer of 18 and a normal adjoining organization sample have proved that it becomes a diagnostic marker for Mam005 (SEQ ID NO:3) to detect cancer cells of breast carcinoma using mRNA.

[Layout Table]

SEQUENCE LISTING

<110> Sun, Yongming
Recipon, Herve
Cafferkey, Robert
DIADEXUS LLC

<120> A NOVEL METHOD OF DIAGNOSING, MONITORING, STAGING ,
IMAGING AND TREATING BREAST CANCER

<130> DEX-0040

<140>
<141>

<150> 60/095,232
<151> 1998-08-04

<160> 9

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1
<211> 544
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (505)..(506)

<220>
<221> unsure
<222> (510)

<220>
<221> unsure
<222> (521)

<220>
<221> unsure
<222> (527)..(528)

<220>
<221> unsure
<222> (531)

<220>

<221> unsure
<222> (534)..(535)

<220>
<221> unsure
<222> (540)..(541)

<400> 1
ctagtctcga gtctagagcg ccttgccctc tcttaggctt tgaagcattt ttgtctgtgc 60
tccctgatct tcatgtcacc accatgaagt tcttagcagt cctggactc ttgggagttt 120
ccatctttct ggtctctgcc cagaatccga caacagctgc tccagctgac acgtatccag 180
ctactggcc tgctgatgat gaagccctgt atgctgaaac cactgctgct gcaaccactg 240
cgaccactgc tgctcttacc actgcaacca ccgtcgctc taccactgct cgtaaagaca 300
ttccagttt acccaaattgg gtggggatc tcccgaatgg tagagtgtgt ccctgagatg 360
gaatcagctt gagtcttctg caatggtca caactattca tgcttctgt gatttcatcc 420
aactacttac ctgcctacg atatccctt tatctcta at cagtttattt tctttcaat 480
aaaaataaac tatgagcaac taaaannaaan aaaaaaaaaa naaaaannaa naannaaan 540
naga 544

<210> 2
<211> 1066
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (729)..(813)

<400> 2
gttgaccagt ggtcatgcca ctgcctgtt atttgtt gaa aatattgttt acacgtatgt 60
tcttgttact gattgtcaga aagctggttt tgagactgca gcttgacta aattcagtca 120
tctggctgtc tggggaaagca tgctgaccag tctgggttc tttggcatct actcagccat 180
ctggtccacc attctcattt ccccaaatat gagaggacag aagaatggta ccggtaactgc 240
caatggagat ggaggzaagga gacagaaaga aacagagccc agaccctagg gaccaccaggc 300
atttgcagaa tggataaaca gccttcttcc taacaaagga agcacagcaa ctgtgatect 360
gagctgtgca cacttctgtt tggattatt tctggtttct acttctgtt tgaagatgtg 420
gcatggagag tgaacaagct gctgccacc acctggcatc acagccccag aactcagcta 480
tttccatggg accacagcat ctcatctctg ggctgagcca gaaagacccc tactgaagtc 540
cagaggact tttctgaaag gctctgtttt gacctgaagt attttatcta tcctcagtct 600
caggacactg ttgatgaaat taaggccaaag cacatctgca aaaaagacat tgctggagga 660
ggtgcaaaga gctggaaacc aagtctccag tcctggaaa agcagtggta tggaaaagca 720
atggaaagnn nnnnnnnnnnn nnnnnnnnnnn nnnnnnnnnnn nnnnnnnnnnn 780
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnnn nnnnnnnnnnn nnnncatagca ccaatgacct gaagagccct 840
gttgaaggaa gactccatct gatgactcag agcaagtatt ttttagtgtt tatttgtt 900
tagcagaaaag agggccataa aatacatggg gcaagctgaa tatactttag gcaaaaagaag 960
aaaatattca aattctttagt ttatatttac taattattt atctttttt gtgtgtgact 1020
tataatgtt gtattgtt aataaaagta tataaacatg tagttt 1066

<210> 3
<211> 649
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 3
gcaatgttta atatctcata agctatacac acctcgaagc catcaatgac aacctttct 60
tgctgaatag aacagtgatt gatgtcatga agacaatttt atctcccttt gccttcata 120
atttgtacca ggttatataa tagtataaca ctgccaagga gcggattatc tcatctcat 180
cctgttaattc cagtgttgt cacgtggtg ttgaataaaat gaataaaagaa tgagaaaacc 240
agaagctctg atacataatc ataatgataa ttatttcaat gcacaactac ggggggtgct 300
gaactagaat ctatatttc tgaactggc tctcttagga tctactaatg atttaaatct 360
aaaagatgaa gtttagttaaag catcagaaaaa aaaaggtaaa caaattgctc ctgtggagat 420
gattggcattc acatgggtt ttgagctgat acacccaaca cttgagctca ctgcaacagt 480
accagatttt cacegctatg cttcccttca ctctgggagt cttccagagg tcttgcactc 540
gggagagcat gtcaggttt cccagctct aaaaaatcac ccagaatgcc aaagacttca 600
acacaagggtt aaataagggtt gatctcagaa ttgtcacctc zaaaaggcc 649

<210> 4
<211> 388
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (378)

<220>
<221> unsure
<222> (385)

<400> 4
agctgctcaa tacggAACat atttcAGTC ctcctctggc ctacaaAGCC tggatttct 60
tgtctatggc cagaACGTCT ggttaatct acaggaACCC ataacttccG gaAGCTTTat 120
gcttaacagt gacaACGTGA gtcagttgaa ttttattgtg tttcagtccg tagagtatta 180
gctaaacagaa acctttccat tgcCataactg agaaACTGGC agcaggcagt gtgcctacag 240
gtctacaaAGG aaacttcaga tcatacttctt gagggaaAGA agctgaagtG ctacataaga 300
tgcttgcgtc tcataactct cagaAGCTGC agattctgtA taaatccttA gaaaAGAGCA 360
tcccctgaat ccataaANGt atatngcg 388

<210> 5
<211> 1227
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (327)

<210> 6
<211> 253
<212> DNA
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> unsure
<222> (181)

<220>
<221> unsure
<222> (201)

<220>
<221> unsure
<222> (205)

<220>
<221> unsure
<222> (238)

<220>
<221> unsure
<222> (241)..(242)

<220>
<221> unsure
<222> (250)

<400> 6
gaacagcctc acttgtttg ctgtcagtgc cagtagggca ggcaggaatg cagcagagag 60
gactcgccat cgtggccttg gctgtctgtg cggccctaca tgcctcagaa gccatacttc 120
ccattgcctc cagctgtgc acggaggttt cacatcatat ttccagaagg ctcctggaaa 180
nagtgaatat gtgtcgatc naganagctg atggggattt tgacttgct gctgtcancc 240
nnncatgtcan gcg 253

<210> 7
<211> 943
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (128)

<220>
<221> unsure
<222> (130)

<220>
<221> unsure
<222> (925)

<400> 7
ggggggcctgg ccccccccccc tgtgaggacc ccgcgggtgc tggggtaaga ggctctagac 60
ccttcacctg tcagtcacct gagggaggct gagggcaagc cccatccctc agaatcaagg 120

cttgcaancn cccctcacct gcccagtctc tgcacacacc cctcggtctg aagacggccc 180
tgaccaggcc ctgggcctca cccgaccaccc ctcctccctcc tgcctggacc caggagtag 240
gtgcaggggg ctccgagccc ctggtagactg tcacccgtgca gtgcgccttc acatggccc 300
tgagggcacg aacaggagcc gacccgttca gctcgccggc actgcgtggc caagccctcc 360
ctcaccaggc ccagcttggg caactcaggt gggccagaaa gccccccgtg gctgcgtgg 420
agctgggcacg cggcccgact gaggcagctg ctggaaagagg gggtgccaga ggtactgccc 480
ctccctgcaag gccccaccca ggaggcccccc tctgaggaat ctcttgcag ttacctagcc 540
ccaggtgagg acgggactg ggtcccccattc cccgaggagg agtcgtgca gagggcctgg 600
caggacgcaag ctgcctgccc cagggggctg cagctgcagt gcaggggagc cgggggtcgg 660
ccggtcctct accaggtggt ggcacagcac agctactccg cccagggcc agaggacctg 720
ggttccgcac agggggacac ggtggacgtc ctgtgtgaag tggaccaggc atggctggag 780
ggccactgtg acggccgcat cggcatctc cccaaatgtct tcgtggtccc cggccggccct 840
cgatgtcaag gagccccccgg cgcctgccc cgatcccagc agggagatca gcccataatga 900
tgctgtgtcc atgatgtttt taatnaaaaa aaccccaact gca 943

<210> 8
<211> 249
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> unsure
<222> (48)

<220>
<221> unsure
<222> (110)

<220>
<221> unsure
<222> (192)

<220>
<221> unsure
<222> (205)

<220>
<221> unsure
<222> (218)

<400> 8
atcacattaa gtcattgcta attttataaa caaaaacaat gttttttttt tgcacatccc 60
tgatttgtat tgctgttagaa catatggaa gaagttttttt tgcctttggg gttttttttca 120
tgaatagatt gtgtgccttcat tttctttttgg ggtattcagt ttttttttttttac tgatgtgagc 180
atgtgtatgg gngattatgg gatgtttttt agttttttttt agtagactgg caatatgg 240
tcttgcgtgt 249

<210> 9

<211> 690
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
gacgcccagt gacctgccga ggtcgccagc acagagctct ggagatgaag accctgttcc 60
tgggtgtcac gctcgccctg gccgctgccc tgccttcac cctggaggag gaggatatca 120
cagggacctg gtacgtgaag gccatgggg tcgataagga ctttccggag gacaggaggc 180
ccaggaaggt gtccccactg aagtgacag ccctgggcgg tgggaagttg gaagccacgt 240
tcacccatc gaggaggat cggtgcatcc agaaaaaaat cctgatgcgg aagacggagg 300
agcctggcaa atacagccgc tatggggca ggaagctcat gtacctgcag gagctgccc 360
ggagggacca ctacatctt tactccaaag accagcacca tggggccctg ctccacatgg 420
gaaagcttgt gggtagaaat tctgatacca accgggaggc cctggaaagaa tttaagaaat 480
tggtgacgcg caagggactc tcggaggagg acatttcac gcccctgcag acgggaagct 540
gcgttcccgaa acactaggca cccccgggt ctgcacccctc agagccacc ctaccaccag 600
acacagagcc cggaccaccc ggacctaccc tccagccatg accctccct gtcccccccc 660
acctgactcc aaataaagtc cttctccccc 690

[Translation done.]